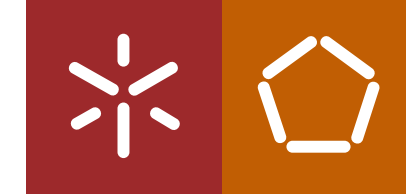




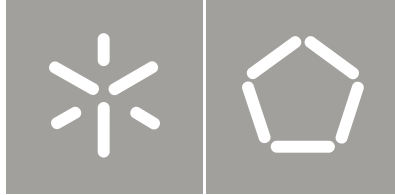
Tiago Alexandre da Silva Monteiro

Desenho e otimização do  
processo de fabrico de um  
biossensor piezoelétrico de base polimérica

Universidade do Minho  
Escola de Engenharia







Universidade do Minho  
Escola de Engenharia

Tiago Alexandre da Silva Monteiro

Desenho e otimização do  
processo de fabrico de um  
biossensor piezoelétrico de base polimérica

Tese de Mestrado  
Micro e Nanotecnologias

Trabalho efetuado sob a orientação da  
Professora Doutora Graça Maria Henriques Minas

e co-orientação do  
Professor Doutor Senentxu Lanceros-Méndez

## *Agradecimentos*

Como não poderia ter realizado este trabalho sem o apoio de um conjunto de pessoas excepcionais que me guiaram e auxiliaram a chegar a este ponto, aproveito esta oportunidade para expressar a minha gratidão por tudo o que fizeram.

À Professora Graça Minas manifesto o meu profundo agradecimento por todo o apoio prestado, pela oportunidade e confiança depositadas em mim e em especial pela amizade criada ao longo destes dois anos.

Ao Professor Senentxu Lanceros-Méndez, a minha gratidão por toda a disponibilidade em me ajudar a crescer como investigador, pelo incentivo a realizar um trabalho exemplar e por todas as horas facultadas a partilhar o seu vasto conhecimento.

À Vanessa Cardoso, sem a qual não estaria a apresentar esta dissertação, os meus agradecimentos pela paciência e inspiração que com as quais facilitou-me e incentivou-me a realizar este trabalho.

Ao Armando Ferreira e ao Marcos Martins, um obrigado por todo o auxílio teórico e prático fulcrais para melhor entender uma área com a qual me encontrava pouco familiarizado.

Agradeço a todos os meus colegas e amigos pelas gargalhadas e, em especial, um obrigado à minha família por todo o apoio incondicional que me deram ao longo destes 23 anos.

# Resumo

---

A constante aposta na melhoria da qualidade de vida humana, particularmente no ramo da Saúde e Medicina, tem proporcionado o desenvolvimento de técnicas e metodologias que permitam a geração de produtos mais eficientes, baratos e úteis.

Um dos casos recentes de sucesso consiste na aplicação dos domínios da Física, Química, Biologia, Ciências dos Materiais e Engenharia para o desenvolvimento de dispositivos portáteis de análise de fluídos biológicos. Estes dispositivos têm a capacidade de fornecer uma resposta *in situ* sobre o conteúdo a analisar, dispensando-se o transporte da amostra para um laboratório de análises, o que poderia demorar dias.

Atualmente, existem inúmeros dispositivos de análises comercialmente disponíveis ou descritos na literatura. A maior parte destes dispositivos baseiam-se em (bio)sensores e muitos desses biossensores baseiam-se no efeito piezoelétrico. O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um biossensor piezoelétrico, sensível a variações de massa, cujo elemento transdutor é o *Polifluoreto de vinilideno e trifluoroetileno*, PVDF-TrFE, um polímero piezoelétrico de fabrico e implementação relativamente simples e com baixos custos de produção.

Neste trabalho foram criados vários protótipos utilizando técnicas como Pulverização Catódica por Magnetron para a deposição de Titânio como elemento condutor e *Spin-coating* para a deposição de PVDF-TrFE. A polarização do elemento transdutor foi realizada recorrendo-se a métodos de Polarização por Pratos Paralelos e por Descarga Corona. As propriedades das amostras foram estudadas por Medidas Elétricas de 4 pontas, Microscopia Eletrónica de Varrimento, Perfilometria e Análise Vectorial de Circuitos.

A possibilidade do desenvolvimento de um sensor piezoelétrico utilizando esses métodos e materiais foi demonstrada, embora o processo de fabrico necessite ainda de ser otimizado.

# Abstract

---

The constant efforts in the improvement of the human quality of life, particularly in Medicine and Health, have fostered the development of techniques and methodologies that allow the creation of more efficient, cheaper and useful products.

One of the recent successes consists on the application of Physics, Chemistry, Biology, Material Science and Engineering for the development of portable analytical devices for biological fluids. These devices have the capability to offer an *in situ* evaluation of the product to be analyzed, thus not being necessary the sample transportation to an analysis laboratory, which could take days.

Nowadays, several analytical devices exist, commercially available or described in the literature. Most of these sensors are based on bio(sensors) and many of these biosensors are based on the piezoelectric effect. The purpose of this work is the development of a piezoelectric biosensor based on PVDF-TrFE (copolymer of *Polyvinylidene fluoride* e *trifluoroethylene*), a piezoelectric polymer relatively easy to fabricate and with low production and implementation costs, as the transducer element.

Various prototypes were fabricated using techniques such as Magnetron Sputtering, for the deposition of Titanium as the conductive element, and spin-coating for the deposition of PVDF-TrFE. The polarization of the transducer element was achieved by Corona Discharge and Parallel Plate Poling. The samples properties were studied by 4 point electrical measurements, Scanning Electron Microscopy, Profilometry and Vectorial Network Analysis.

The feasibility of development of a piezoelectric sensor using these methods and materials was achieved, although the fabrication process still requires optimization.

# Índice

---

Resumo .....	iii
Abstract.....	v
Índice .....	vi
Índice de Figuras .....	vii
Índice de Tabelas .....	ix
Lista de Acrónimos e Termos.....	x
1. Introdução.....	1
1.1. Enquadramento .....	1
1.2. Apresentação do trabalho.....	2
1.2.1. Planeamento do trabalho .....	3
1.3. Contributos deste trabalho .....	4
1.4. Organização da dissertação.....	4
2. Estado de Arte .....	6
2.1. Biossensores.....	6
2.1.1. Elemento sensível.....	7
2.1.2. Elemento Transdutor .....	9
2.2. Piezoelectricidade .....	10
2.3. Biossensores Piezoelétricos: Micro- e Nanobalanças.....	12
3. Materiais e métodos .....	16
3.1. Materiais .....	16
3.1.1. PVDF-TrFE .....	16
3.1.2. Titânio.....	18
3.2. Métodos .....	19
3.2.1. Métodos de Deposição .....	19

3.2.2.	Métodos de Polarização.....	22
3.2.3.	Métodos de Caracterização .....	28
4.	Fabrico: Resultados e Discussão .....	36
4.1.	Modelo #1 .....	37
4.2.	Modelo #2 .....	49
5.	Conclusões .....	62
6.	Trabalho Futuro.....	63
	Bibliografia.....	64

## Índice de Figuras

---

<i>Figura 1 - Diagrama esquemático de um biossensor [3].</i> .....	7
<i>Figura 2 - Estrutura do monômero de PVDF.</i> .....	17
<i>Figura 3 - Representação esquemática do processo de Pulverização Catódica [53]...</i>	19
<i>Figura 4 - Esquema do processo de confinamento do plasma pela ação de magnetrons [54].</i> .....	20
<i>Figura 5- Esquema e imagem do equipamento usado no processo de Pulverização Catódica em Magnetron [53].</i> .....	21
<i>Figura 6 - Imagem do sistema de deposição por Spin-Coating.</i> .....	22
<i>Figura 7 - Curva de histerese associada ao processo de polarização do PVDF-TrFE [59].</i> .....	23
<i>Figura 8 - Esquema de um processo de polarização por Descarga Corona Positiva auto-sustentável [62].</i> .....	24
<i>Figura 9 - Imagem do sistema de Polarização por Descarga Corona.</i> .....	26
<i>Figura 10 - Esquema de um sistema de polarização por placas paralelas [59].</i> .....	26
<i>Figura 11 - Imagem do sistema adaptado de Polarização por Pratos esquematizado na figura 10.</i> .....	27
<i>Figura 12 - Imagem detalhada do contato dos elétrodos com a amostra.</i> .....	27



<i>Figura 13 - Esquema do método de medição da resistividade por 4 pontas. ....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 14 - Fonte de corrente (esquerda) e Nanovoltímetro (direita) utilizados na medição da resistividade. ....</i>	<i>29</i>
<i>Figura 15 - Representação esquemática do tipo de interações por SEM [53]. ....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 16 - Espectro Eletromagnético [69]. ....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 17 - "Smith Chart" [68]. ....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 18 - Conetor utilizado para a normalização do processo de medição em RF... </i>	<i>35</i>
<i>Figura 19 – Esquema da hierarquia de multicamadas pretendida. ....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 20 - Resultados do processo de Deposição do filme de Titânio. ....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 21 - Imagens da topografia de amostras de Ti obtidas através de SEM, com ampliações de 5000 e 50000 vezes. ....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 22 - Gráfico da média da variação do Potencial com o aumento da Intensidade de Corrente para as amostras de Ti #1. ....</i>	<i>39</i>
<i>Figura 23 - Degradação visível das amostras de Titânio com 150 e 200 nm. ....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 24 – Amostras de Ti com tiras de Cu para a transferência do sinal elétrico desde a face superior (esquerda) para a face inferior (direita). ....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 25 - Imagens da topografia de amostras de PVDF-TrFE sobre Ti, obtidas através de SEM, a uma ampliação de 5000 e 15000 vezes. ....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 26 - Imagem da topografia de amostras de PVDF-TrFE TrFE sobre Ti, obtidas através de SEM, a uma ampliação de 50000 vezes. ....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 27 - Imagem microscópica do efeito de um arco elétrico sobre uma amostra de PVDF-TrFE. ....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 28 - Máscara personalizada criadas a partir de folhas de acetato (esquerda) e Máscara circular utilizada como controle no processo de deposição (direita). ....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 29 - Amostras de Ti-(PVDF-TrFE)-Ti através da utilização de máscaras personalizadas. Vista de cima (esquerda), vista de baixo (direita). ....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 30 - Amostras de Ti-(PVDF-TrFE)-Ti através da utilização de máscaras circulares. Vista de cima (esquerda), vista de baixo (direita). ....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 31 - Resultado do processo de Deposição do eletrodo inferior no modelo #2. .</i>	<i>49</i>
<i>Figura 33 - Esquema da aplicação de máscaras no processo de Spin-Coating para o isolamento da zona de contato. ....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 33 - Resultado do processo de deposição do eletrodo superior de Ti (padrões rectangulares no centro). Destaque para o isolamento do contato com o eletrodo inferior (padrões rectangulares nas faces laterais). ....</i>	<i>52</i>

<i>Figura 34 - Imagens da topografia de amostras de Ti sobre PVDF-TrFE/Ti, obtidas através de SEM, com ampliações de 5000 e 100000 vezes. ....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 35 - Imagem da topografia de amostras de Ti sobre PVDF-TrFE/Ti, obtidas através de SEM, com ampliação de 50000 vezes. ....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 36 - Resultado da imobilização dos contatos às amostras. Vista superior (esquerda) e inferior (direita). ....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 37 – Máscaras utilizadas no processo de Spin-Coating para o isolamento das zonas de contato. Vista de cima (esquerda) e vista de baixo (direita). ....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 38–Resultado do processo de funcionalização nas condições descritas na tabela 3. Amostra 2B. ....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 39 - Resultado do processo de funcionalização nas condições descritas na tabela 3. Amostra 4B (esquerda) e 3B (direita). ....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 40 - Imagens da topografia de amostras de PVDF-TrFE sobre Ti/PVDF-TrFE/Ti, obtidas através de SEM, com ampliação de 1000 vezes. ....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 41 - Imagens da topografia de amostras de PVDF-TrFE sobre Ti/PVDF-TrFE/Ti, obtidas através de SEM, com ampliação de 1000 e 5000 vezes. ....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 42 – Amostra resultante da deposição de um excedente de PVDF-TrFE sem recorrer à técnica de Spin-Coating. ....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 43 – Deposição de PVDF-TrFE na forma de uma gota (esquerda) e através de um pincel (direita). Amostra Modelo #1. ....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 44 - Resultado do processo de funcionalização nas condições descritas para a Amostra 2B da tabela 3. Amostra Modelo #1. ....</i>	<i>60</i>

## Índice de Tabelas

---

<i>Tabela 1 - Registos da Resistividade Superficial e Volúmica para as amostras de Ti. ....</i>	<i>40</i>
<i>Tabela 2- Skin Depth do Titânio para a gama de frequências de 1 kHz até 10 GHz. ...</i>	<i>42</i>
<i>Tabela 3 - Registo de condições do processo de Deposição por Spin-Coating. ....</i>	<i>56</i>

# Lista de Acrónimos e Termos

---

BLSF	<i>Bismuth Layer-Structured Ferroelectric</i> , (Camadas estruturadas de Bismuto ferroelétrico)
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> , (Ácido Desoxirribonucleico)
PVDF	<i>Poly(Vinylidene Fluoride)</i> , (Poli(Fluoreto de Vinilideno))
PVDF-TrFE	<i>Poly(Vinylidene Fluoride &amp; Trifluoroethylene)</i> , (Poli(Fluoreto de Vinilideno & Trifluoretileno))
PZT	<i>Lead Zirconate Titanate</i> , (Titanato Zirconato de Chumbo)
QCM	<i>Quartz Crystal Microbalance</i> , (Microbalança de Cristais de Quartzo)
SEM	<i>Scanning Eletron Microscopy</i> (Microscopia Eletrónica de Varrimento)
TEOM	<i>Tapered Element Oscillating Microbalance</i> (Microbalança Oscilante de Elemento Cónico)
Ti	<i>Titanium</i> (Titânio)

# 1. Introdução

Neste capítulo descreve-se, sumariamente, o panorama atual do tema desta dissertação, as necessidades de desenvolvimento, os objetivos propostos e a motivação para a sua realização. É também descrito o planeamento do trabalho e apresentada a estrutura da presente dissertação.

## 1.1. Enquadramento

A procura de novas tecnologias que permitam suplantar as atuais tem conduzindo a ciência a uma interdisciplinaridade nunca antes vista, integrando conhecimentos das mais variadas áreas para colmatar as limitações individuais de cada uma. Com o desenvolvimento de novas técnicas e metodologias, que permitiram um melhor conhecimento sobre a organização e interação entre átomos e moléculas, surgiu uma nova área de conhecimentos denominada por Nanotecnologia, a ciência que estuda o comportamento de partículas a uma escala nanométrica. A junção destas tecnologias emergentes com uma vasta interdisciplinaridade e intercâmbio de conhecimento entre áreas tem permitido o desenvolvimento de produtos mais complexos e completos.

Os biossensores são definidos como dispositivos com um sistema de reconhecimento biológico (enzimas, anticorpos, nucleótidos, entre outros), designado por biorreceptor, e um elemento transdutor que converte a informação num efeito mensurável, tal como um sinal elétrico. Na sua íntegra, são sensores que tiram proveito da elevada sensibilidade e seletividade do material biológico. Os biossensores podem possuir várias vantagens, tais como simplicidade e baixo custo, oferecerem respostas rápidas e exigirem pouco pré-tratamento das amostras [1, 2].

Atualmente existe um conjunto de biossensores que utilizam transdutores do tipo optoeletrónico, eletroquímico e piezoelétrico. Enquanto os primeiros dois se baseiam em métodos de medição ótica e elétrica, respetivamente, os transdutores piezoelétricos utilizados em biossensores baseiam-se na medição da variação da amplitude na

frequência de ressonância do material devido ao aumento de massa do transdutor. Por esta razão os transdutores piezoelétricos são apropriados para a determinação direta da massa de analitos, uma vez que não requerem a utilização de marcadores bioquímicos e sistemas complexos de detecção ótica. Para além disso, possuem uma abrangência de detecção limitada apenas pela capacidade de imobilização específica de determinada molécula. Por estas razões, será este o tipo de transdutor que irá ser abordado neste trabalho.

## **1.2.Apresentação do trabalho**

Este trabalho tem por finalidade o desenvolvimento e otimização de uma balança piezoelétrica para a detecção de biomoléculas. O interesse nestes dispositivos é inerente à necessidade de obtenção de novos produtos mais baratos, rápidos e sensíveis que possam ser comercializados e que possam substituir os atuais dispositivos de análise.

Pretende-se, com este trabalho, realizar uma prova de conceito da viabilidade de fabrico de um biossensor, utilizando novos métodos ou materiais que promovam uma melhoria nas suas propriedades. A integração dos sistemas à escala micro- e nanométrica resulta na atribuição de propriedades únicas ao dispositivo. Este sistema incorpora um elemento piezoelétrico e um conjunto de elétrodos metálicos para a transdução e transmissão de um sinal elétrico. Vários processos de funcionalização do sensor, tornando-o seletivo a determinado analito, podem ser adotados.

Desse modo, o principal objetivo desta dissertação assenta em compreender e otimizar os principais parâmetros envolvidos na deposição de filmes finos em multicamadas, visionando a obtenção de um sistema funcional e eficiente. Em consequência das necessidades apresentadas, optou-se pela utilização de Titânio para a deposição de elétrodos devido à sua resistividade química. Devido à facilidade de produção e processamento, boas propriedades eletromecânicas e reduzido custo, optou-se pela escolha do copolímero de *Polifluoreto de vinilideno e trifluoroetileno*, PVDF-TrFE (70/30), para a deposição do elemento piezoelétrico.

Foram utilizadas técnicas de Pulverização Catódica por Magnetron, para a deposição dos eletrodos, e de *Spin-Coating*, para a deposição do elemento transdutor. Utilizaram-se ainda as técnicas de Polarização do polímero por Descarga Corona e por Pratos Paralelos.

A caracterização da topografia dos diversos constituintes foi obtida através de ensaios de Perfilometria e Microscopia Eletrônica de Varrimento (SEM). A resistividade dos eletrodos foi medida através do método de 4 pontos e a frequência do sinal do sensor foi determinada através de Análise Vetorial de Circuitos.

### **1.2.1. Planeamento do trabalho**

Tendo em conta a concretização dos objetivos definidos, realizou-se um estudo e planeamento das etapas a serem cumpridas de modo a alcançar o sucesso do projeto.

Em primeiro lugar realizou-se um Estado da Arte sobre os vários sensores e biossensores disponíveis comercialmente ou descritos na literatura. Analisaram-se as necessidades de desenvolvimento e a viabilidade de cada proposta. Obtendo-se uma noção do sistema a ser desenvolvido, testaram-se os diversos materiais e métodos a serem utilizados. Foram depositados filmes de Titânio, segundo diversos parâmetros de deposição, e estudadas as resistividades e taxas de adesão ao substrato. Determinando os parâmetros ideais, foram depositados filmes de PVDF-TrFE, em condições já previamente padronizadas, e estudados os parâmetros de polarização. Uma última camada de Titânio foi depositada, nas mesmas condições, a frequência do sinal medida e as topografias de cada uma das camadas analisadas através de SEM. Tendo em conta os resultados obtidos, foram realizadas adaptações aos processos e realizados novos ensaios com o intuito de otimizar os procedimentos.

Por fim, investigou-se a viabilidade de funcionalização do sensor através da deposição de uma camada semi-porosa de PVDF-TrFE sobre o dispositivo. Os resultados foram analisados através de SEM.

### **1.3.Contributos deste trabalho**

Este trabalho pretende explorar o nicho ainda pouco desenvolvido dos biossensores piezoelétricos. Embora esta seja uma tarefa exaustiva e que requer muito mais estudo e desenvolvimento, pretende-se com este trabalho iniciar a pesquisa neste tema, visionando, no futuro, a criação de dispositivos de análises biológicas com um custo reduzido, elevada sensibilidade e com uma resposta rápida e *in situ*.

A vasta abrangência de disciplinas envolvidas neste projeto permite também incentivar o estudo de estruturas multi-camadas e integração de tecnologias, conduzindo à padronização e aperfeiçoamento, no futuro, de cada uma das etapas de produção e análise de um biossensor. Nesta área, pretende-se alcançar a otimização das condições de trabalho para a obtenção das propriedades desejadas, tendo em conta a interação entre camadas com materiais distintos e a influência destes no processo das diversas técnicas utilizadas. A adaptação de técnicas e materiais, parte constituinte do processo de otimização, é também incentivado neste trabalho.

### **1.4.Organização da dissertação**

No presente capítulo contextualizou-se o trabalho, aludindo à importância do estudo e otimização das diversas etapas do processo de fabrico do biossensor. Descreveu-se genericamente o problema em estudo, a motivação, os contributos e os objetivos pretendidos.

O capítulo 2 apresenta o Estado de Arte sobre o tema da dissertação, demonstrando mais detalhadamente, os motivos que levaram à escolha dos métodos e materiais utilizados neste projeto. Inicia-se com uma abordagem à panorâmica dos biossensores, qual a sua evolução, quais os diferentes tipos de elementos transdutores, o que já foi alcançado e quais as necessidades atuais, terminando com uma descrição dos variados dispositivos de micro- e nanobalanças descritos na literatura.

No capítulo 3 são caracterizados os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento do projeto. São descritas as propriedades essenciais do PVDF-TrFE e Titânio e as suas vantagens para esta aplicação. São também descritas as várias técnicas de deposição, polarização e caracterização utilizadas.

No capítulo 4 é abordada a metodologia e os passos experimentais efetuados nas diversas etapas de produção e caracterização do sensor. Este conjunto de procedimentos são apresentados e discutidos de modo a fornecer informação sobre os resultados obtidos e as necessidades de adaptação e otimização dos vários processos de produção.

O capítulo 5 apresenta as conclusões e apreciações globais ao trabalho realizado, explicitando os passos alcançados com sucesso e as necessidades de pesquisa e desenvolvimento.

Por fim, o capítulo 6 descreve, por tópicos, os pontos fulcrais a serem explorados em trabalhos futuros para a otimização e continuação do desenvolvimento deste projeto.



## 2. Estado da Arte

Neste capítulo serão abordados os fundamentos teóricos essenciais para a compreensão do trabalho realizado. Inicia-se com uma abordagem à panorâmica dos biossensores; qual a sua evolução; quais os diferentes tipos de elementos transdutores; o que já foi alcançado e quais as necessidades atuais; terminando com uma descrição dos variados dispositivos de micro- e nanobalanças descritos na literatura.

### 2.1. Biossensores

Um biossensor é um dispositivo analítico desenvolvido para a detecção e quantificação de determinado analito biológico. Embora o conceito não seja recente, com o aparecimento de novas tecnologias e materiais, aliados ao desenvolvimento de técnicas de miniaturização de componentes, tem sido permitida a criação de dispositivos de menores dimensões, mais complexos e sensíveis. É importante notar que, devido à complexidade que envolve cada uma das partes de um biossensor, existe a necessidade de explorar diferentes áreas de investigação para abordar cada tema com a maior profundidade possível.

Um biossensor comum é constituído por 3 partes:

- Um elemento sensível, responsável pelo reconhecimento e associação das moléculas biológicas ao sensor;
- Um elemento transdutor que, através de processos óticos, piezoelétricos, eletroquímicos (ou outros), converte o sinal físico-químico derivado da medição em um sinal elétrico que pode ser processado;
- Um circuito eletrónico que permita a integração do sinal elétrico/eletrónico e respetiva conversão para um sistema GUI (*Graphical User Interface*).

Este esquema pode ser observado na figura 1. Uma membrana seletiva pode ser adicionada, em certos casos, para melhorar a eficiência de detecção limitando a interferência por parte de outras moléculas.

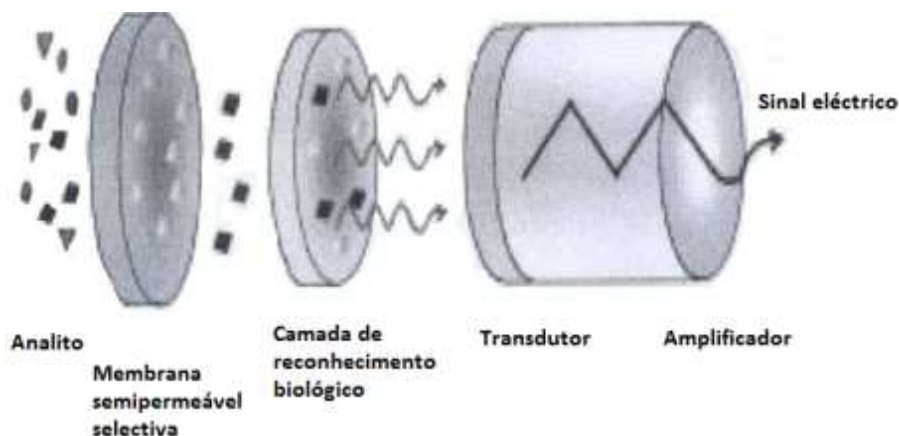


Figura 1 - Diagrama esquemático de um biossensor [3].

### 2.1.1. Elemento sensível

A produção de um elemento biossensível que seja específico a um único tipo de molécula biológica envolve conhecimentos na área de Biologia Celular, Proteómica, Imunologia e Ciências dos Materiais. É necessário conhecerem-se as interações físico-químicas envolvidas na ligação do elemento sensível às moléculas biológicas, a razão pela sua especificidade, como a controlar e que melhor proveito se pode retirar.

Um dos primeiros trabalhos desenvolvidos, demonstrava o potencial dos biossensores funcionalizados com moléculas biológicas recorrendo à imobilização sobre o elemento transdutor de Proteína A, uma proteína de origem bacteriana (*Staphylococcus aureus*) com elevada afinidade à região Fc de anticorpos. Como existe um anticorpo específico para cada agente patogénico (vírus, bactérias, entre outros), foi possível assim criar-se um dos primeiros métodos de análise imunológica rudimentar. Esta imobilização foi obtida através de processos eletroestáticos com iões de fosfato de potássio, possibilitando não só a imobilização como uma posterior regeneração do sensor, envolvendo o decréscimo do pH de modo a dissociar Proteína A das IgG [4].

Com o desenvolvimento de novos métodos de funcionalização superficial e o estudo da associação de proteínas a filmes poliméricos, foram surgindo novas técnicas de detecção envolvendo anticorpos. Um estudo comparando vários métodos de imobilização demonstrou que o método mais efetivo consistia na deposição de PEI (*polyethyleneimine*) sobre o sensor, sendo posteriormente incubado com uma solução de gluteraldeído para permitir a ligação química covalente a um anticorpo [5].

Esta ligação química é mais forte e estável que ligações eletroestáticas, tendo sido desse modo aproveitada para o desenvolvimento da geração seguinte de sensores. Uma das aplicações demonstrou a possibilidade da utilização destes conceitos para o diagnóstico de Tularemia. Ao contrário do que havia sido feito até ao momento, procedeu-se à imobilização de epítomos (fragmento do antigénio com maior potencial de gerar uma resposta imune, ou seja, segmento proteico da bactéria responsável pela doença reconhecido pelo anticorpo) para a detecção de anticorpos específicos à doença. Esta técnica permite a identificação da doença após 24h de exposição, com uma certeza de 95%, revelando-se um grande avanço científico na área de BioMedicina [6].

O desenvolvimento progressivo dos métodos de imobilização, em conjunto com recentes técnicas de microfabricação, permitiram a criação de dispositivos com capacidade para análises múltiplas simultâneas [7], com tempos de análise de apenas 4 minutos com 6 minutos de regeneração e elevada reprodutibilidade até 12 ciclos [8].

Mais recentemente, têm surgido novas abordagens envolvendo a imobilização de cadeias ssDNA (*single strain Deoxyribonucleic acid*), permitindo a análise de perfis genéticos. No entanto, devido às reduzidas dimensões (e peso associado) das moléculas de DNA, torna-se complicado encontrar um elemento transdutor sensível o suficiente para detetar pequenas alterações. Uma das estratégias para ultrapassar este desafio consiste na funcionalização da amostra a ser analisada com Biotina, um complexo da vitamina B7 com elevada afinidade para Avidina, uma proteína tetramérica produzida nos ovidutos de aves, répteis e anfíbios e com grande peso molecular. Deste modo é possível aumentar consideravelmente a massa associada de cada conjunto sonda-amostra [9].

### 2.1.2. Elemento Transdutor

A escolha do elemento transdutor depende do método de análise adotado e vice-versa. Estes métodos de análise podem ser divididos em três grupos: Métodos Eletroquímicos, Óticos ou Piezoelétricos, sendo que os dois primeiros dominam o mercado atual em dispositivos Point-of-Care.

Os dispositivos baseados em ensaios Eletroquímicos foram os primeiros a serem comercializados com sucesso permitindo a análise quantitativa de pequenas moléculas presentes no sangue ou urina, tal como a glucose. Este processo envolve a oxidação do analito através de enzimas específicas – no caso da glucose, as enzimas *glucose oxidase* e *glucose dehydrogenase* – e um mediador *redox*, tal como *ferroceno* ou *ferrocianeto* [10]. É requerida, portanto, a presença de enzimas específicas que oxidam especificamente o analito. A análise de moléculas complexas que possuam vários grupos químicos diversos ou inertes torna-se portanto uma dificuldade para este processo. Os processos eletroquímicos são também bastante influenciáveis por variações de temperatura, pH, força iônica, acumulação de produtos *redox* secundários e pela própria condição dos elétrodos [11].

A utilização de processos Óticos e Optoeletrônicos permite alargar o leque de analitos. Torna-se, contudo, necessário a utilização de moléculas de reconhecimento e identificação – biomarcadores – que não só sejam específicas para o analito que se pretende analisar, como que permitam também a sua visualização, seja a olho nú ou através de sistemas Optoeletrônicos. Um dos sistemas de análise ótica mais simples e baratos baseia-se no processo de *Lateral-Flow Assays* (LFA), ensaios imunocromatográficos de fluxo capilar e análise qualitativa visual. Este sistema apenas permite análises simples de poucos passos tendo sido mais usados no ramo de imunologia. Embora possuam menor sensibilidade (quando comparando com ensaios tais como *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA) e apenas forneçam resultados sim/não, o seu reduzido custo, facilidade de utilização e rápida resposta têm tornado este sistema amplamente utilizado [12].

Os dispositivos Optoeletrônicos têm como objetivo a integração de sistemas automatizados de leitura e processamento de imagem. Além dos biomarcadores

específicos, estes dispositivos requerem ainda o uso de um sistema ótico de detecção, geralmente baseados em sistemas *Charge-Coupled Device* (CCD) ou *Complementary Metal-Oxide Semiconductor* (CMOS). Com a constante evolução destes sistemas de detecção óticos, torna-se atualmente possível a detecção de centenas de reações em simultâneo. No entanto, torna-se complicado miniaturizar estes componentes com um custo reduzido e de um modo eficiente [11].

Os dispositivos com elementos transdutores Piezoelétricos não possuem estes problemas. Além de serem sensíveis, de baixo custo de produção e com elevado grau de integrabilidade com circuitos eletrónicos, não possuem restrições quanto ao tipo de analito, estando tal dependente apenas do método de imobilização. Estes elementos atuam como sensores através da variação da amplitude na frequência de ressonância como consequência da aplicação de um campo elétrico.

Embora já existam inúmeras aplicações de sensores Piezoelétricos, apenas atualmente começaram a surgir Biossensores Piezoelétricos com elementos transdutores poliméricos. Estes materiais apresentam maior sensibilidade, facilidade de processamento, menor custo e menores impedâncias acústicas e mecânicas que os cristais e as cerâmicas piezoelétricas [13-15].

## **2.2.Piezoelétricidade**

O efeito piezoelétrico é um efeito eletromecânico linear onde a tensão (**S**) e stress (**T**) mecânicos estão associados a um campo elétrico (**E**) e ao deslocamento elétrico (**D**). A aplicação de uma tensão sobre duas faces opostas do elemento piezoelétrico originam uma deformação mecânica e vice-versa. Incluindo ainda o coeficiente piezoelétrico (**d**), é possível observar na equação 1 o efeito piezoelétrico reverso e na equação 2 o efeito piezoelétrico direto [16].

$$S = dE \quad (1)$$

$$D = dT \quad (2)$$

Este coeficiente piezoelétrico pode ser descrito para polímeros isotrópicos segundo a equação 3, onde  $d_{33}$  representa o coeficiente piezoelétrico quando a tensão aplicada é normal ao eixo polarizado,  $Q_{33}$  o coeficiente eletrostrictivo ao longo do eixo polarizado,  $P_D$  a polarização induzida pelo campo DC,  $\varepsilon$  a permitividade dielétrica e  $\varepsilon_0$  a permitividade dielétrica no vácuo [16].

$$d_{33} = 2Q_{33}P_D(\varepsilon - \varepsilon_0) \quad (3)$$

Verifica-se portanto que o coeficiente piezoelétrico depende particularmente das propriedades intrínsecas do material e do processo de polarização.

A eficiência da conversão de energia elétrica em mecânica é determinada através do fator de acoplamento eletromecânico,  $k^2$ . Este fator depende da direção do campo elétrico e do stress ou tensão mecânica. Deste modo, para aplicação como sensor/atuador, pode-se descrever a eficiência segundo a equação 4, sendo  $k_{33}^2$  o fator de acoplamento eletromecânico,  $d_{33}^2$  o coeficiente piezoelétrico,  $\varepsilon_{33}^T$  a permitividade dielétrica e  $s_{33}^E$  o fator de compliância elástica (inverso da rigidez), todos estes fatores referentes à direção longitudinal de atuação [16].

$$k_{33}^2 = \frac{d_{33}^2}{\varepsilon_{33}^T s_{33}^E} \quad (4)$$

### **2.3.Biossensores Piezoelétricos: Micro- e Nanobalanças**

De um modo geral, a determinação da massa de determinadas partículas pode ser alcançada através de técnicas diretas de micropesagem, que se baseiam fundamentalmente na determinação da massa, ou através de métodos indiretos que recorrem a propriedades das partículas, além da massa, para a sua quantificação. Exemplos destas técnicas indiretas incluem sistemas de detecção ótico, eletroquímico, entre outros. Contudo, estes métodos tornam-se problemáticos na medida em que não existem correlações físicas consistentes entre as propriedades das partículas e a sua massa. Exemplos de técnicas de determinação direta incluem técnicas de gravimetria e técnicas envolvendo processos de piezoelectricidade [17].

O gravímetro é um dispositivo usualmente utilizado para a determinação da aceleração da gravidade. Gravímetros relativos baseiam-se em sistemas elásticos, tais como molas, para a determinação de uma grandeza fundamental, distância, obtendo-se assim uma grandeza derivada, aceleração. Assegurando uma aceleração constante, e através da Lei de Newton, a variação da distância pode ser determinada pela massa do corpo associado ao sistema elástico. É possível, deste modo, determinar a massa de determinado analito desde que este seja sólido e compacto o suficiente para ser associado ao sistema elástico. Para a detecção de pequenas moléculas dissolvidas em líquido, ou dispersas no ar, é necessário a sua deposição num substrato, tal como um filtro poroso. Esta abordagem envolve passos morosos e que impossibilitam o estudo e caracterização de processos dinâmicos [17].

Outros dos métodos desenvolvidos consiste na microbalança de Cahn, uma adaptação à balança de pratos convencional. Baseando-se no equilíbrio de dois pratos idênticos, unidos por um eixo e localizados em pontos equidistantes do centro de massa do dispositivo, a adição de uma matéria de massa desconhecida em um dos pratos é equilibrada com a atuação de um motor de torque em sentido oposto, sendo a corrente necessária para esta atuação quantificada e relacionada com a massa da amostra. Embora esta técnica seja sensível a alterações de até 0,1  $\mu\text{g}$ , a sua aplicação na detecção de analitos em amostras fluídicas torna-se complicada devido à necessidade de separação física dos estados sólido e líquido da amostra [18]. A adaptação deste processo à análise de amostras biológicas é possível, resultando contudo em

instrumentos cuja complexidade e dimensões elevadas não facilitam o desenvolvimento de dispositivos portáteis de análise [19].

Embora, historicamente, as primeiras técnicas de medição da massa tivessem sido baseadas no efeito gravimétrico, balanças de pratos e outras técnicas semelhantes, estes dispositivos têm sido substituídos por dispositivos piezoelétricos de menores dimensões e com capacidade de fornecer uma resposta rápida e precisa.

O efeito piezoelétrico pode ser observado em materiais naturais, tais como cristais de quartzo, tendo estes sido utilizados como microbalanças para a detecção de pequenas massas nas suas superfícies. Apesar de possuir boas propriedades eletromecânicas e ser amplamente utilizado como sensor e atuador, registando-se, nas condições certas, limites de detecção na ordem das nanogramas, a sua dificuldade fabrico, processamento e integração limitam o leque de aplicações e a sua qualidade [20-22].

*Quartz Cristal Microbalances* (QCM), a designação conferida a microbalanças piezoelétricas de cristais de Quartzo, são dos dispositivos piezoelétricos mais estudados e utilizados na detecção de massa. De fato, esta tecnologia tornou-se abrangente de tal modo a permitir a sua integração em sistemas de caracterização, tal como de Microscopia Superficial de Varrimento [23] e *Tapered Element Oscillating Microbalance* (TEOM). Esta última é uma tecnologia que baseia-se na medição precisa da massa de determinado analito através da sua taxa de deposição. Amostras, geralmente de ar, por onde as partículas de interesse são transportadas, atravessam um tubo oco de formato cónico. Um filtro piezoelétrico, geralmente QCM e oscilando na sua frequência de ressonância, encontra-se na abertura do tubo, registando a taxa de deposição das partículas de interesse através da variação da amplitude do sinal. Através da quantificação direta da massa associada ao sensor, e quantificando também o fluxo de ar que atravessou o tubo, é possível determinar a concentração do analito [17, 24].

Esta tecnologia é limitada à precisão e seletividade do processo de filtragem. A sua aplicação converte-se no controle ambiental, detetando partículas poluentes na indústria de mineração e processamento de metais pesados [17, 24] e no controle de processos na



indústria química, detetando taxas de adsorção de produtos de reação e permitindo a determinação de passos reacionais e equilíbrio de reações [25-27].

Outras aplicações de microbalanças de Quartzo envolvem o estudo de processos de deposição [28], adsorção [29], aplicação como sensor [30-32], caracterização de propriedades físicas de materiais [33, 34], entre outros. Contudo, a grande vantagem deste sistema de medição de massa consiste na sua possibilidade de funcionalização de modo a tornar o sistema seletivo a determinada molécula. A sua integração na análise de amostras biológicas, onde a seletividade para o analito a analisar é obtida através da especificidade de grupos químicos, e não através das dimensões das partículas, permitiu o desenvolvimento de biossensores piezoelétricos [35-39].

Contudo, embora tenham sido efetuados estudos para o desenvolvimento de novos materiais piezoelétricos, possivelmente devido ao grande sucesso das QCM, poucos dispositivos piezoelétricos têm sido explorados com outros materiais como transdutores. Apesar da aposta em materiais cerâmicos policristalinos ferroelétricos, como o Titanato de Bário ( $\text{BaTiO}_3$ ) e o Titanato Zirconato de Chumbo (PZT), excelentes para aplicações de rápida resposta e alta precisão, a sua elevada fragilidade e suscetibilidade a fratura, tanto com a aplicação de forças mecânicas como elétricas, limitam o tempo de vida e a gama de operação destes sensores [40, 41].

No entanto, com as novas consciencializações ambientais, têm sido desenvolvidos materiais com propriedades semelhantes ao PZT, mas sem chumbo incorporado. Dentro do âmbito das piezocerâmicas mais convencionais, o grupo das cerâmicas baseadas em estruturas de bismuto ferroelétrico, BLSF, demonstram possuir uma reduzida constante dielétrica, elevada temperatura de Curie e elevada anisotropia, propriedades que conferem a possibilidade de aplicação em sensores piezoelétricos de elevada temperatura, mantendo no entanto os mesmos problemas associados às cerâmicas piezoelétricas [42, 43].

Desse modo, surge como boa possibilidade o desenvolvimento de balanças piezoelétricas com outros materiais piezoelétricos, como por exemplo de base polimérica, objetivo último deste trabalho.

A procura de materiais não poluentes, com relativa facilidade de produção e baratos, conduziu à pesquisa de materiais poliméricos sintéticos orgânicos com propriedades piezo-, piro- e ferroelétricas. Estas propriedades atraíram a atenção sobre o Poli(Fluoreto de Vinilideno), PVDF e Poli(Fluoreto de Vinilideno - Trifluoretileno), PVDF-TrFE [44].

O PVDF-TrFE é um polímero fluorocarbonado termoplástico, semi-cristalino e transparente. Apresenta dipolos elétricos permanentes formados pela diferença de eletronegatividade entre os átomos de Flúor e Carbono e possui não só características piezoelétricas, como também ferroelétricas e piroelétricas. Possui baixa densidade, menor impedância que o quartzo e uma maior facilidade na obtenção de filmes finos, flexíveis e de baixo custo [16, 40, 45]. Tanto o PVDF como o seu copolímero, PVDF-TrFE, têm-se tornado no objeto de estudo e aplicação para o desenvolvimento de micro- e nanobalanças [20, 46].

## 3. Materiais e métodos

Neste capítulo serão abordados os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento do biossensor. É apresentada uma breve descrição das propriedades do PVDF-TrFE e do Titânio e a sua importância na escolha destes materiais para a produção do biossensor. É de igual modo apresentada uma descrição das técnicas utilizadas na deposição e processamento de cada um dos materiais, com os eventuais problemas associados, e os métodos de caracterização escolhidos para analisar os resultados obtidos.

### 3.1. Materiais

Neste sub-capítulo serão descritas as propriedades fundamentais dos materiais utilizados nas várias etapas de fabrico do sensor e as razões que conduziram à sua escolha.

#### 3.1.1. PVDF-TrFE

O elemento transdutor piezoelétrico escolhido foi o PVDF-TrFE 70/30, um copolímero derivado do PVDF. A sua diferença estrutural prende-se com a substituição de um átomo de Hidrogénio por outro de Flúor em cada monómero. Esta alteração permite facilitar a obtenção da fase cristalina  $\beta$ , fase mais apreciada pelas suas excelentes propriedades eletroativas, elevada constante dielétrica e facilidade de processamento. A sua integração como elemento transdutor em sistemas piezoelétricos tem sido aposta de estudo e desenvolvimento sendo, atualmente um material bem caracterizado [47, 48].

A nível molecular, o PVDF é um polímero hidrocarbonado composto por moléculas de Carbono, Hidrogénio e Flúor. Apresenta uma fórmula molecular  $-(CH_2CF_2)-$ , como é possível observar na figura 2, repetida  $n$  vezes. A diferença estrutural do monómero de

TrFE prende-se com o rácio de moléculas de Hidrogénio por Flúor, sendo este de 1:3 em comparação com o rácio de 1:1 apresentado pelo monómero de VDF. Tratando-se de um copolímero com uma razão 70/30 entre VDF e TrFE, tal significa que, estatisticamente, por cada dez monómeros, sete são de VDF e três de TrFE.

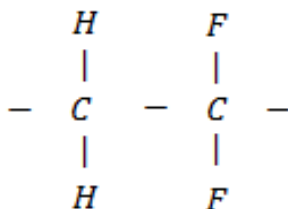


Figura 2 - Estrutura do monómero de PVDF.

O PVDF-TrFE é um polímero polimorfo sintético semicristalino, possuindo fases cristalinas e amorfas. Comparativamente com o PVDF, onde um estiramento mecânico ou tratamento térmico é usualmente necessário para converter o polímero na fase  $\beta$ , a fase mais desejável do ponto de vista tecnológico, com o PVDF-TrFE esta fase surge naturalmente a condições ambientais normais. A fase  $\beta$  é caracterizada pela organização uniforme de todos os átomos de Flúor num mesmo plano da cadeia, com os átomos de Hidrogénio organizados no plano oposto. No caso específico do PVDF-TrFE, visto apenas existir um átomo de Hidrogénio por cada três de Flúor, é assegurado que pelo menos dois átomos de Flúor estão sempre no mesmo plano. O tratamento térmico e a polarização do filme são passos fulcrais para potencializar as propriedades intrínsecas do PVDF-TrFE [48, 49].

Comparativamente com outros materiais piezoelétricos comuns, o PVDF-TrFE combina as propriedades de um plástico com as de um elemento piezoelétrico. Embora possua um menor coeficiente piezoelétrico que alguns materiais cerâmicos, tais como o Titanato Zirconato de Chumbo (PZT) e o Titanato de Bário ( $\text{BaTiO}_3$ ), possui uma maior constante de tensão, o que o torna um melhor sensor que os materiais cerâmicos. Apresenta também baixa impedância acústica e mecânica e não possui elementos

poluentes (tal como Chumbo). É ainda um dos poucos materiais piezoelétricos que possui elevada flexibilidade, baixa densidade, elevada resistência a agentes químicos e ao envelhecimento e transparência, o que pode permitir a integração com sistemas de leitura ótica [48, 49].

As amostras de PVDF-TrFE (70/30) foram obtidas através do fornecedor Solvay na forma de pó. O solvente utilizado na sua dissolução, Dimetilformamida, foi obtido a partir do fornecedor Merck.

### **3.1.2. Titânio**

O Titânio foi o elemento adotado para a deposição dos contatos. Com interesse na análise de elementos biológicos, é importante assegurar que os contatos, que podem vir a encontrar-se em contato com as próprias amostras em análise, não oxidem e não interfiram com as moléculas a serem analisadas. Este elemento, comparativamente com outros materiais geralmente utilizados como contatos elétricos, tais como Prata, Ouro ou Cobre, possui uma densidade inferior e uma elevada resistência a reações químicas e biológicas, sendo um dos habituais elementos utilizados no revestimento de próteses médicas com elevado grau de biocompatibilidade [50, 51].

O Titânio utilizado foi obtido através do fornecedor Kurt J. Lesker com um grau de pureza de 99,98%.

## 3.2.Métodos

Neste sub-capítulo serão abordadas os princípios fundamentais necessários para a compreensão das técnicas e métodos utilizados nas várias etapas de fabrico do sensor.

### 3.2.1. Métodos de Deposição

#### 3.2.1.1. *Pulverização Catódica em Magnetron*

O processo de Pulverização Catódica é um dos vários tipos de *Physical Vapour Deposition* (PVD). O seu princípio fundamental consiste na transferência de átomos desde um alvo até à amostra a ser revestida, recorrendo para tal ao bombardeamento do material do alvo com partículas energéticas. A câmara onde a deposição ocorre é inicialmente selada e uma bomba turbomolecular reduz a pressão no seu interior. De seguida é preenchida com Árgon, um gás nobre, particularmente inerte, que o torna ideal para a transferência de energia sem a interferência de radicais químicos. A aplicação de uma diferença de potencial entre o alvo (cátodo) e o porta-substratos (ânodo), figura 3, conduz à criação de uma descarga elétrica (plasma) [52].

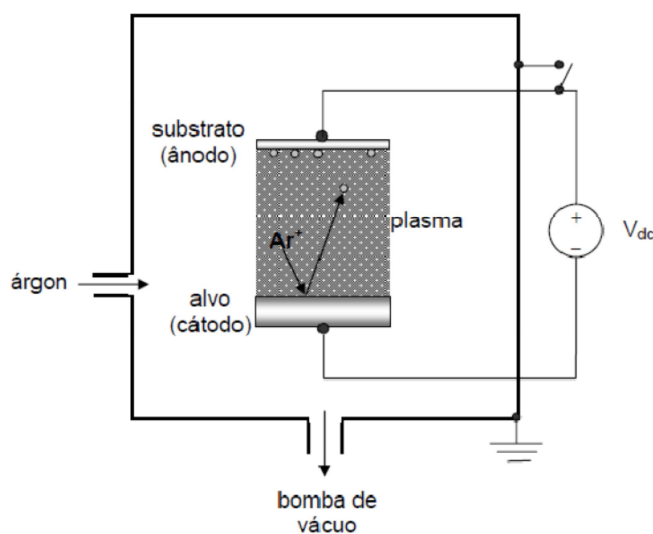


Figura 3 - Representação esquemática do processo de Pulverização Catódica [53].

A ação contínua do campo elétrico induzido acelera os iões positivos ( $\text{Ar}^+$ ) em direção ao cátodo onde a energia é transferida destas partículas para os átomos do alvo através da conservação do momento linear. Estes átomos deslocam-se dentro da câmara até atingirem um substrato onde se depositarem. A sua energia cinética é transferida para o substrato aquando da colisão, permitindo a incorporação e reajuste dos átomos dentro da estrutura em formação através de processos de difusão [52].

De um modo geral, a distribuição do plasma adensa-se perto do alvo. No entanto, esta densidade diminui com o aumento da distância entre o alvo e o substrato, o que altera as condições de deposição. A introdução de um campo magnético, através de um magnetrão, permite o aprisionamento de eletrões presentes no plasma e o seu redirecionamento. O modelo de magnetrão assimétrico de tipo 2, figura 4, permite a implementação de linhas de campo distendidas ao longo da câmara entre o alvo e o substrato, impedindo a dispersão aleatória dos eletrões e direcionando-os para mais próximo do substrato aumentando a taxa de ionização do gás de trabalho. Esta inovação permite a redução da corrente aplicada ainda como aumento da pressão de trabalho, do bombardeamento do alvo por iões e da taxa de deposição [52, 54].

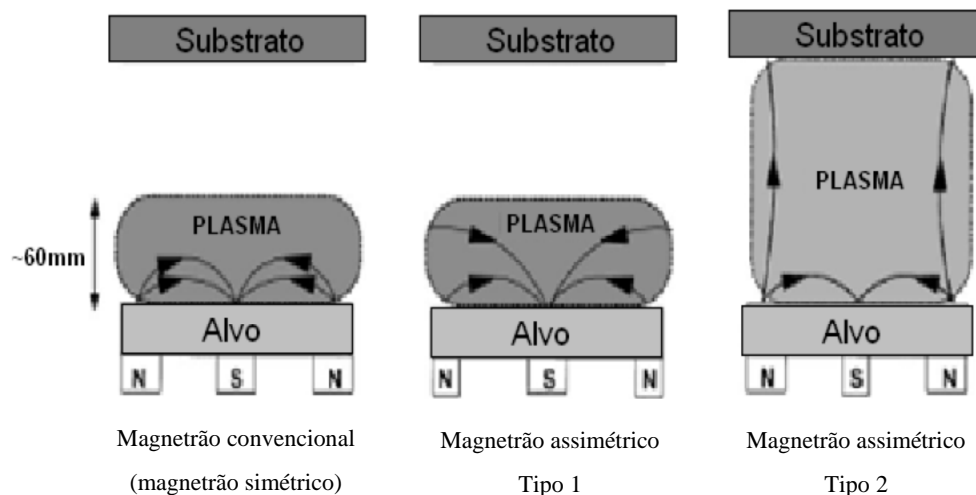


Figura 4 - Esquema do processo de confinamento do plasma pela ação de magnetrons [54].

O sistema utilizado é constituído por um sistema de vácuo, uma câmara de deposição, uma antecâmara, um sistema de pulverização em magnetrão de Tipo 2 e equipamento auxiliar de medição e controle dos parâmetros experimentais, recorrendo a um sistema de alimentação por corrente contínua (DC), como se pode observar na figura 5.

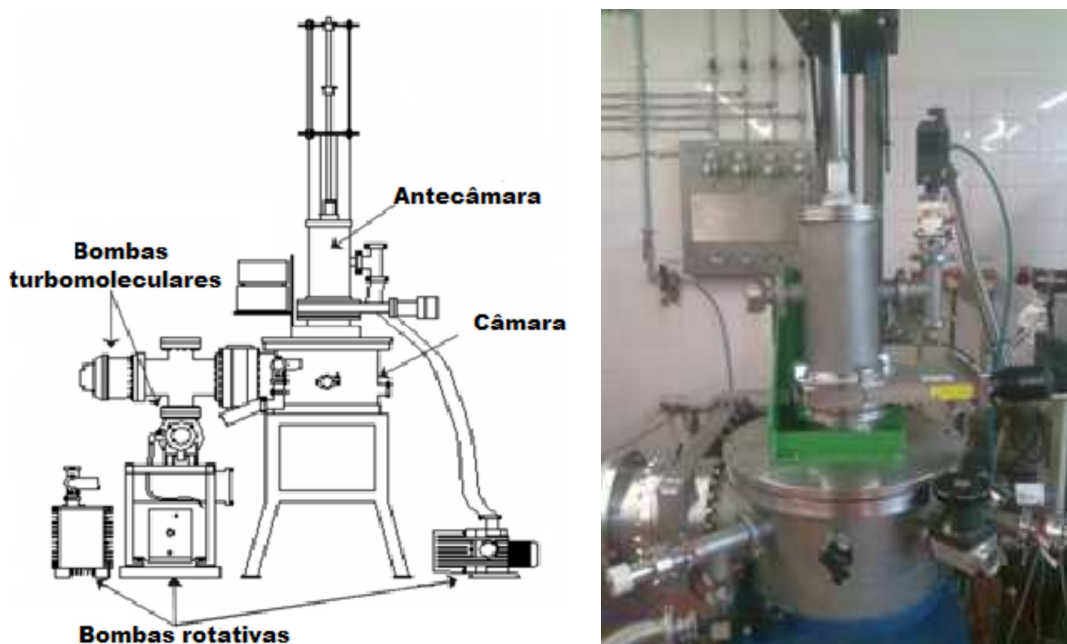


Figura 5– Esquema e imagem do equipamento usado no processo de Pulverização Catódica em Magnetron [53].

### ***3.2.1.2. Deposição por Spin-Coating***

O *Spin-Coating* é um procedimento que consiste na deposição uniforme de um filme fino polimérico sobre um substrato. Esta técnica baseia-se na aplicação de uma força centrífuga que movimenta o fluído que se deseja depositar desde o centro da amostra, onde uma gota com excedente de material é depositada, até às extremidades do substrato. Um solvente volátil é adicionado previamente ao material a depositar permitindo assim a sua liquefação. A velocidade e aceleração de rotação determinam a espessura do filme depositado, sendo esta também influenciada pela concentração de solvente em solução [55, 56].



Um passo final de evaporação do solvente é necessário. Este pode ser obtido à temperatura ambiente ou, através de uma placa de aquecimento, a qualquer temperatura abaixo da Temperatura de Curie. A temperatura de evaporação e a concentração de solvente são cruciais para a determinação da estrutura cristalina do material depositado [55, 56].

O sistema utilizado consiste num *Spin-coater WS-650 S-6NPP* da *Laurell Technologies* com um sistema de vácuo *SIMRAN SYM-300DE* (300W), tal como se pode observar na figura 6.



Figura 6 - Imagem do sistema de deposição por *Spin-Coating*.

### 3.2.2. Métodos de Polarização

A polarização do elemento piezoelétrico é um passo fulcral para a reorientação dos dipolos, de modo a obter um máximo de constante piezoelétrica. A necessidade advém do fato de, após a deposição do PVDF-TrFE, as suas moléculas se encontrarem desalinhadas. Aquando da aplicação de um campo elétrico, a distância entre as cargas dos dipolos mantém-se, procedendo-se apenas a uma rotação e reorientação das

partículas e do seu momento dipolar [57]. O campo coercivo ( $E_c$ ) é definido como o campo elétrico com intensidade mínima suficiente para provocar o realinhamento ferroelétrico dos dipolos. O  $E_c$  pode ser identificado pelo ponto de interseção da curva de histerese com o eixo das abscissas [58]. A imagem na figura 7 demonstra esquematicamente o efeito de polarização e a histerese associada ao processo.

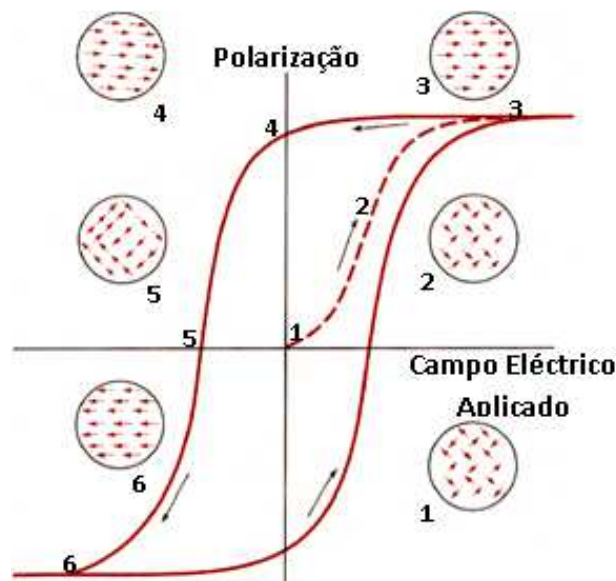


Figura 7 - Curva de histerese associada ao processo de polarização do PVDF-TrFE [59].

No caso do PVDF-TrFE, o processo de polarização ocorre apenas com a aplicação de um campo elétrico com uma tensão útil superior a  $30 \text{ MVm}^{-1}$ , o que equivale a uma tensão de  $30 \text{ V}\mu\text{m}^{-1}$ . Empiricamente, é aplicada uma tensão 1,5~2x superior a este valor para assegurar que não ocorre reversibilidade do processo.

No entanto, existem diferenças entre os vários processos de polarização disponíveis com variações no resultado final.

### 3.2.2.1. Polarização por Descarga Corona

O processo de Descarga Corona baseia-se na polarização de um material dielétrico através da aplicação de uma descarga elétrica autossustentável, transferindo uma corrente e criando por consequente um campo elétrico sobre a amostra.

Uma diferença de potencial é aplicada entre um eletrodo com elevada curvatura (com uma forma cônica), que se encontra afastado da amostra, e um eletrodo com baixa curvatura (forma planar), sotoposto à amostra. A elevada curvatura do eletrodo superior assegura a formação de um elevado gradiente de potencial. Um átomo ou molécula na periferia deste eletrodo é ionizado por ação de um evento exógeno (tal como uma interação fotónica) criando um par de ião-eletrão. O campo elétrico formado junto do eletrodo atua sobre essas partículas, impedindo a sua recombinação e fornecendo-lhes energia cinética suficiente para a colisão e ionização de mais átomos e moléculas no meio envolvente. Este processo em cadeia origina uma avalanche elétrica e a consequente formação de plasma entre o eletrodo e a amostra. [60, 61].

Um esquema detalhado do processo de Polarização por Descarga Corona Positiva pode ser observado na figura 8.

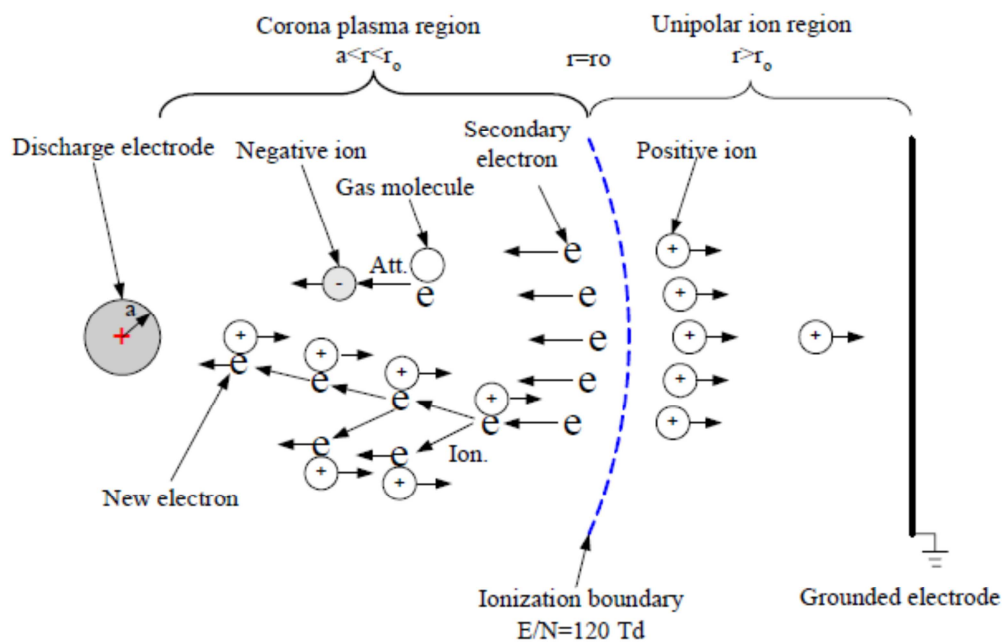


Figura 8 - Esquema de um processo de polarização por Descarga Corona Positiva auto-sustentável [62].

O sistema permite atrair e concentrar elétrons de elevada energia junto ao eletrodo curvo, conduzindo os íons positivos de baixa energia em direção ao substrato. A interação destes íons positivos com a superfície da amostra permite a transferência de energia sem penetração dos mesmos no interior do material. Contudo, o excesso de carga é retido na superfície por defeitos superficiais, ou injetado na amostra através de defeitos na estrutura do material, gerando dipolos permanentes alojados no interior do material [58, 60-62].

Um dos problemas associados à utilização deste processo prende-se com a necessidade de garantir um isolamento elétrico entre ambos os eletrodos. Caso o potencial elétrico atinja valores críticos, podem ser formados arcos elétricos (*electric arc*, *arc discharge* ou *spark discharge*). Este efeito tem como base a transição súbita de parte do elemento dielétrico de um estado isolante para um estado fortemente condutor, completando o circuito entre ambos os eletrodos. Um arco elétrico tem como consequência a degradação permanente do material dielétrico e é um adjuvante para a formação de curto-circuitos no sistema [59, 62].

O controle da temperatura é outro passo fulcral neste processo. Embora a polarização possa decorrer à temperatura ambiente, o aumento da temperatura do material no porta-amostras permite não só uniformizar o processo de transferência de energia dos íons do plasma para a superfície da amostra, como também fornece energia para a reorganização estrutural das moléculas dentro do material. Deste modo, o aumento da temperatura permite obter uma maior eficiência no processo de polarização. É, no entanto, crucial que o processo de aquecimento e arrefecimento seja realizado com a aplicação do campo elétrico de modo a prevenir uma despolarização térmica [49].

O sistema utilizado consiste numa Fonte de Alta-Tensão de Descarga Corona (com controle de tensão e corrente da descarga), um picoamperímetro para o controle da corrente no porta-amostras, um sistema de controlo da temperatura do porta-amostras equipado com um sensor de temperatura e duas resistências de aquecimento. A figura 9 demonstra o sistema utilizado, com uma imagem completa à esquerda e uma imagem pormenorizada da câmara de polarização à direita. Recorreu-se ao software “*Shimaden Lite*” para o controle da variação da temperatura.



Figura 9 - Imagem do sistema de Polarização por Descarga Corona.

### 3.2.2.2. *Polarização por Pratos Paralelos*

O processo de Polarização por Pratos consiste na aplicação de uma diferença de potencial entre dois elétrodos em contato direto com a amostra. Um campo elétrico é formado entre os dois elétrodos permitindo a polarização do material, tal como demonstrado na figura 10. Esta tensão crítica necessária para polarizar o material varia consoante a espessura do mesmo, a sua constante dielétrica, isotropia/anisotropia, porosidade, conteúdo de impurezas entre outros parâmetros [58, 63].

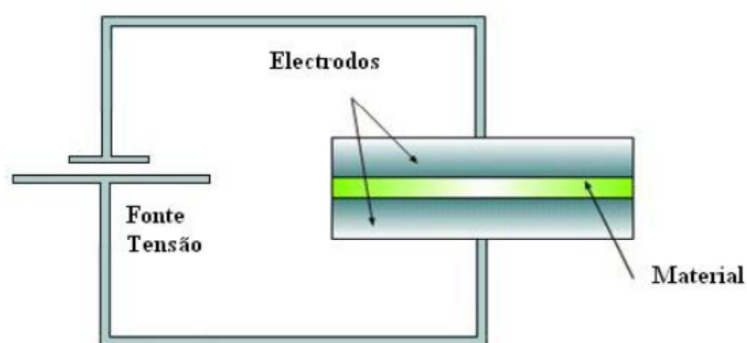


Figura 10 - Esquema de um sistema de polarização por placas paralelas [59].

Ao contrário do processo de Descarga Corona, não se forma plasma e o processo decorre à temperatura ambiente. As condições atmosféricas, tais como humidade e qualidade do ar, também possuem menor influência [58]. Como é possível observar na

figura 11, o sistema disponível para uso consiste numa fonte de alta-tensão Leybold 512-70 (0-10kV a 20 $\mu$ A) e um multímetro ligado em paralelo para controlar com maior precisão a tensão aplicada.

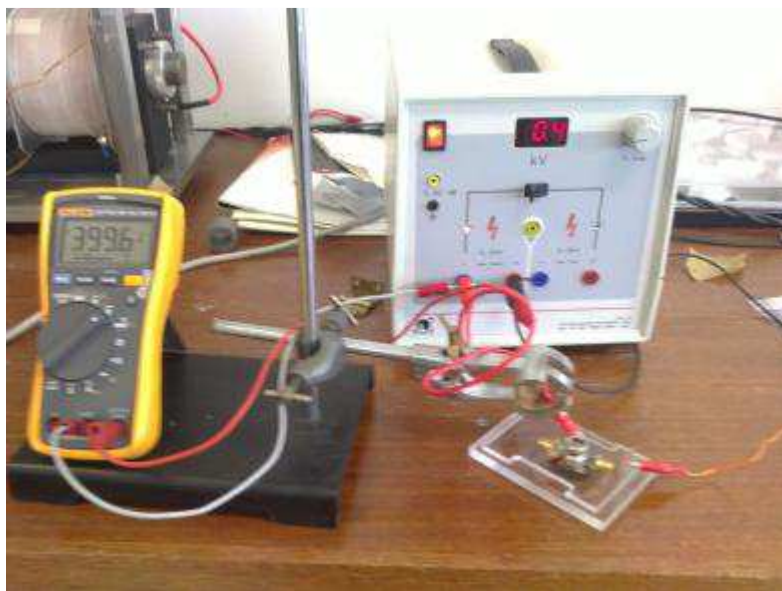


Figura 11 - Imagem do sistema adaptado de Polarização por Pratos esquematizado na figura 10.

Na figura 12 pode observar-se com maior pormenor o método de contato dos elétrodos com a amostra. Um conetor é utilizado para permitir o contato da camada inferior de titânio (sobreposta ao vidro e sotoposta ao PVDF-TrFE) ao elétrodo de contato à fonte. Visto o titânio ser por si condutor, e encontrar-se depositado ao longo de toda a superfície do vidro, a área ativa de polarização é condicionada unicamente pela área do elétrodo superior.

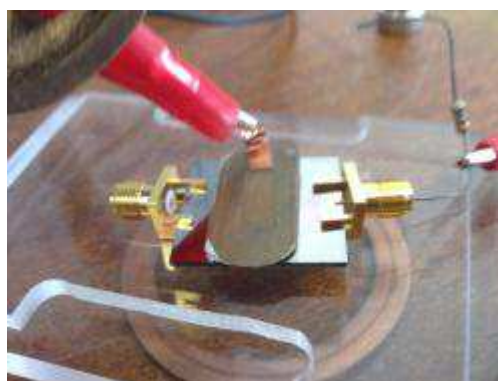


Figura 12 - Imagem detalhada do contato dos elétrodos com a amostra.

### 3.2.3. Métodos de Caraterização

#### 3.2.3.1. Medida da Resistividade pelo método de 4 pontas

O método de preferência para a medição da resistividade em materiais condutores é através de uma sonda de quatro pontas espaçadas equitativamente. Ao contrário do método convencional de duas pontas, uma corrente constante é aplicada nas duas pontas exteriores, medindo-se a tensão, através de um voltímetro, nas duas pontas interiores, como se pode observar na figura 13 [64].

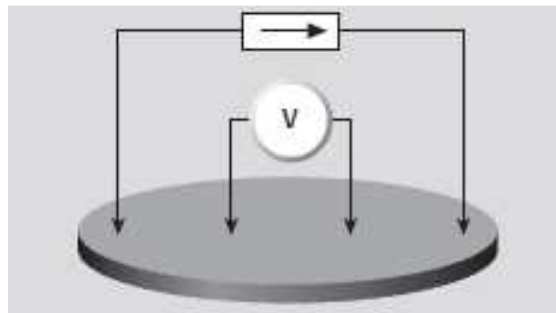


Figura 13 - Esquema do método de medição da resistividade por 4 pontas.

Este método é indicado para a medição da resistividade em filmes finos, onde  $\rho$  é a resistividade superficial em  $\Omega/\text{square}$ ,  $V$  é a tensão medida em Volts e  $I$  a corrente aplicada em Amperes:

$$\sigma = \frac{\pi}{\ln(2)} \cdot \frac{V}{I} \quad (5)$$

Caso a espessura dos filmes seja conhecida, a resistividade volúmica (em  $\Omega.\text{m}$ ) pode ser calculada multiplicando a resistividade superficial pela espessura,  $t$ .



Estas equações permitem identificar a oposição física (resistividade) que os filmes condutores opõem à passagem de corrente. O sistema utilizado consiste numa Fonte de Corrente e um Nanovoltímetro, tal como se pode observar na figura 14.



Figura 14 - Fonte de corrente (esquerda) e Nanovoltímetro (direita) utilizados na medição da resistividade.

### ***3.2.3.2. Microscopia Eletrónica de Varrimento***

A Microscopia Eletrónica de Varrimento (*Scanning Eletron Microscopy*, SEM) é uma técnica não destrutiva de análise superficial. Recorre ao estudo da interação entre um feixe de eletrões com uma superfície a ser analisada, obtendo-se informações sobre a topografia, estrutura cristalina e microestrutura da amostra em estudo. Um feixe é direcionado para a amostra transferindo eletrões com energias entre 0,5~30 keV. O grau de interação entre eletrões e amostra determina os produtos de análise, de onde se podem destacar os Eletrões Secundários e os Eletrões Retrodifundidos [65].

Os Eletrões Secundários são o produto da ionização das partículas superficiais da amostra. Caso a energia proveniente da fonte de radiação seja superior ao potencial de ionização da espécie a ser analisada ocorre um processo de dispersão inelástica onde eletrões são ejetados das orbitais externas e detetados por um sistema de cintilação-fotomultiplicação. Devido à sua baixa energia, estes eletrões são originários apenas de



átomos superficiais com apenas poucos nanómetros de profundidade na amostra, permitindo assim uma análise topográfica [65].

Por sua vez, os Elétrões Retrodifundidos são elétrões de elevada energia originários do feixe incidente. A interação destes com a superfície da amostra, aquando da aplicação do feixe incidente, resulta na dispersão elástica das partículas conduzindo à sua Retrodifusão e deteção por sistemas de cintilação. Quanto maior for o número atómico da espécie em análise, maior é o coeficiente de Retrodifusão, sendo assim possível a diferenciação de espécies químicas em imagens topográficas [65]. Estas interações podem ser observadas na figura 15.

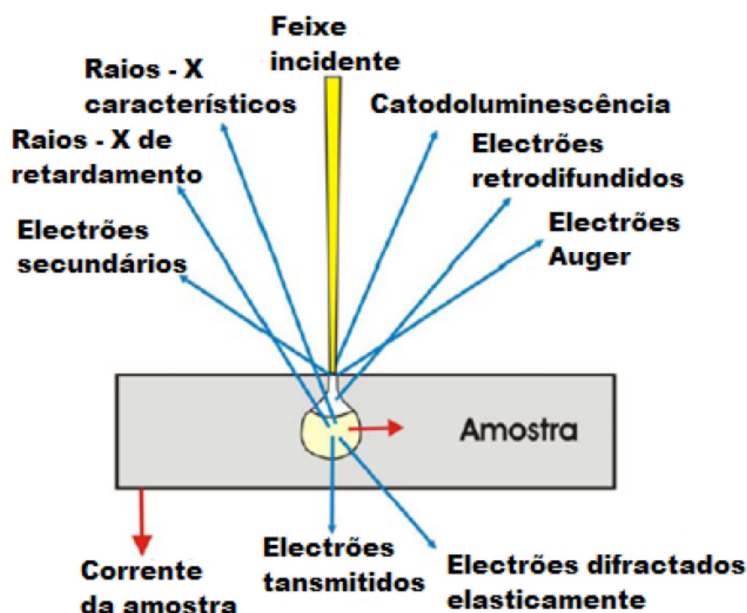


Figura 15 - Representação esquemática do tipo de interações por SEM [53].

Um sistema de EDS/EDX (*Energy-dispersive X-ray Spectroscopy*) pode ainda ser acoplado ao sistema SEM permitindo a caracterização química da amostra. A incidência de uma fonte de radiação de elevada energia pode conduzir à ejeção de um elétron de um nível orbital interior, criando uma lacuna. A integração de um elétron em um nível orbital discreto exterior nessa lacuna emitindo a diferença energética entre os níveis na forma de raios-X. Visto esta energia ser específica à diferença entre as orbitais e à estrutura atómica do elemento de onde é libertada, torna-se possível aferir quanto à composição química e organização cristalina da partícula a ser analisada.

### 3.2.3.3. *Perfilometria*

O Perfilômetro é um instrumento de medição por contato utilizado na caracterização da topografia de materiais rígidos. Um estileto, geralmente de diamante, promove o contato direto vertical com a amostra, registrando a profundidade a que se encontra. O seu movimento lateral permite o varrimento superficial da amostra, detetando alterações verticais na sua estrutura. Comparando, na mesma amostra, regiões com estruturas distintas e parcialmente sobrepostas, é possível detetar a espessura de cada uma das estruturas e variações topográficas ao longo destas. O Perfilometro utilizado é da marca Veeco Dektak 150 – Surface Profiler, com uma resolução até 10 nm [66, 67].

### 3.2.3.4. *Análise Vectorial de Circuitos*

O termo Análise de Circuitos refere-se ao estudo da passagem de uma corrente elétrica por elementos que compõem um circuito elétrico. Embora o conceito seja abrangente, o seu interesse para este trabalho resulta da necessidade de medição da frequência de oscilação a que se encontra o elemento piezoelétrico. A frequência de ressonância do sensor encontra-se dentro da gama de Rádio Frequência (RF), gama de sinais elétricos de corrente alternada com frequências a variarem entre 300 MHz e 300 GHz. Como é possível observar pela figura 16, a localização desta gama de frequências encontra-se entre as Ondas de Rádio e Infravermelho [68].

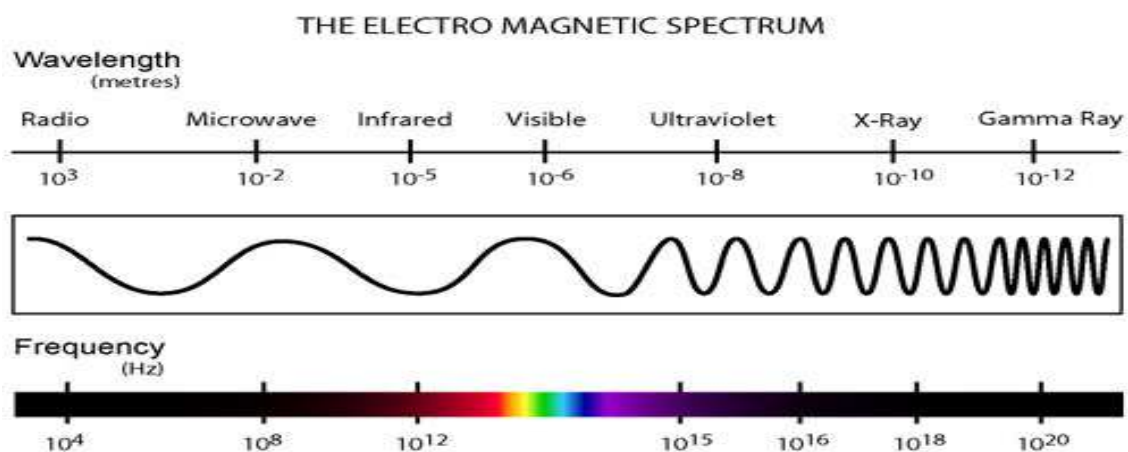


Figura 16 - Espectro Eletromagnético [69].

Devido à elevada frequência e baixo comprimento de onda que esta gama apresenta, os conceitos gerais utilizados na eletrônica convencional não se aplicam, dificultando a integração em circuitos de microeletrônica. Contudo, vários materiais possuem a sua frequência de ressonância dentro desta gama [68]. O PVDF-TrFE, para frequências superiores a 500 kHz, atua preferencialmente na direção  $d_{33}$  representativa da espessura do filme. A sua frequência de ressonância varia consoante a sua espessura segundo a equação 6, sendo  $F_R$  a frequência de Ressonância,  $v$  a velocidade do som no filme de PVDF-TrFE e  $t$  a espessura do filme [70].

$$F_R = \frac{v}{2t} = \frac{2.2 \times 10^3}{2t} \quad (6)$$

O efeito de ressonância ocorre como consequência do sistema ser capaz de armazenar e transferir facilmente energia entre dois estados energéticos diferentes. A esta frequência a admitância é máxima e o filme expande-se com um máximo de amplitude. O ponto a partir do qual a expansão molecular é máxima e a espessura do filme começa a diminuir inicia o processo de antirressonância. Para a aplicação contínua de uma corrente alternada que estimule o sistema por mais de um ciclo, é necessário não só atuar na frequência de ressonância do material, de modo a obter o maior proveito das propriedades intrínsecas dos seus constituintes, como conjugar os passos de ressonância e antirressonância de modo a que não surjam interferências entre os estímulos. Atuando fora da frequência de ressonância, ou caso o 2º ciclo e subsequentes iniciem-se ainda com o processo de antirressonância a atuar, formam-se impedâncias que limitam a eficiência do sistema [16, 68].

Esta eficiência pode ainda ser influenciada pelo próprio sistema de transmissão do sinal elétrico. “*Skin Depth*” é uma medida da profundidade a que a condução elétrica ocorre num material condutor. A RF, o efeito que a espessura do material condutor tem na sua condutância é não linear pelo que existe uma limitação à condutância que é possível obter de uma determinada espessura. A condução ocorre geralmente à superfície do material condutor que se encontre mais perto do meio ao qual a onda eletromagnética se propagará. A “*Skin Depth*” pode ser calculada através da equação 6, onde  $\rho$  representa

a Resistividade “*Bulk*”,  $f$  a frequência,  $\mu_0$  a constante de permeabilidade e  $\mu_R$  a permeabilidade relativa [68].

$$\delta = \sqrt{\frac{2\rho}{2\pi f \mu_0 \mu_R}} \quad (7)$$

Deste modo, quanto maior a frequência, menor será a profundidade a que o sinal percorre durante a transmissão do sinal. Este efeito torna-se particularmente importante caso a espessura do filme condutor seja inferior à “*Skin Depth*” para determinada frequência, diminuindo a capacidade de transmissão do sinal.

O conceito de impedância indica a oposição total que um circuito oferece ao fluxo de uma corrente elétrica alternada. A impedância relaciona não só a amplitude de tensão e corrente como da fase a que se encontra. Uma das principais consequências da impedância de um sistema é o efeito de reflexão de uma onda que se propague por um meio descontínuo. “*Standing Wave Ratio*” (SWR) é uma medida da eficiência de transmissão elétrica que permite determinar o rácio de reflexão de uma onda [68]. Considerando  $\Gamma$  o coeficiente de reflexão,  $V_f$  a amplitude da onda “*forward*” e  $V_r$  a amplitude da onda “*reverse*”, então temos que:

$$\Gamma = \frac{V_r}{V_f}; \rho = |\Gamma| \quad (8)$$

$$V_{max} = V_f + V_r = V_f + \rho V_f = V_f(1 + \rho)$$

$$V_{min} = V_f - V_r = V_f - \rho V_f = V_f(1 - \rho)$$

$$VSWR = \frac{V_{max}}{V_{min}} = \frac{1 + \rho}{1 - \rho}$$

Um método fácil e intuitivo de perceber e analisar as Impedâncias de um sistema é através da análise de um “*Smith Chart*”, figura 17. Este modelo permite não só a visualização gráfica da Impedância total do sistema, como fornece ferramentas para a conversão dos coeficientes de reflexão para impedâncias normalizadas e vice-versa. Foi utilizado o sistema *Vector Network Analyzer* da Agilent, modelo E8358A [68].

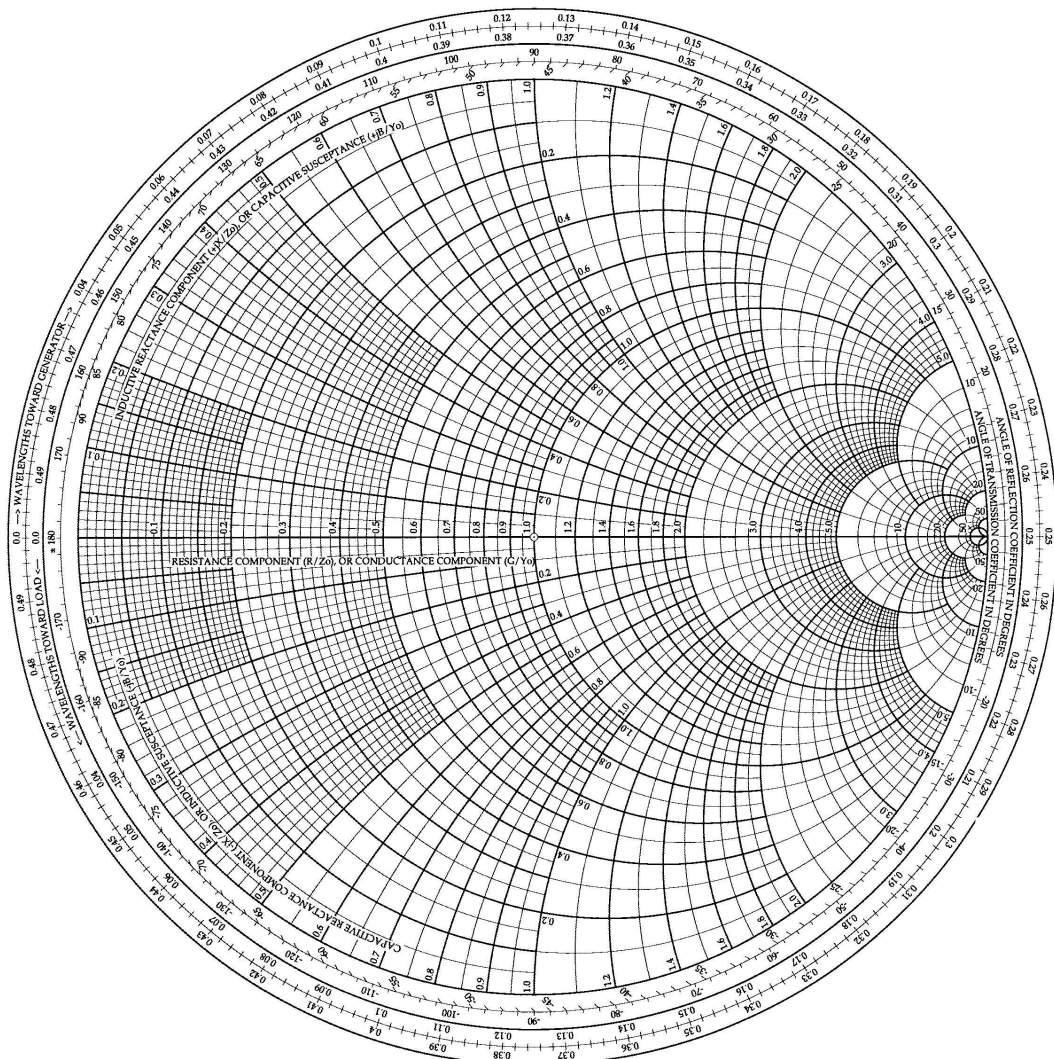


Figura 17 - "Smith Chart" [68].

Para uma medição mais precisa foram utilizados conectores especiais de 50 Ohms. A utilização de cabos de cobre convencionais, ou de outros metais condutores, induzem impedâncias dependentes do tamanho dos cabos, da eficiência de isolamento térmico e eletromagnético e da deformação a que os cabos estão sujeitos. Os conectores utilizados, modelo SMA END LAUNCH JK 1.07PCB do fornecedor RS, possuem:

- Gama de Frequência: DC-18 GHz
- Impedância nominal: 50 Ohms
- Tensão Máxima de Trabalho: 500 V
- VSWR máximo: 1,23
- Temperatura de operação: -65°C a +165°C

O corpo do conector é constituído por Latão, com um revestimento de Ouro com o mínimo de 3µm de espessura, encontrando-se todo ele em curto-circuito. O contato central é constituído por uma liga de Berílio e Cobre com um revestimento de Ouro com o mínimo de 50µm de espessura. Este contato central é responsável pela transferência do sinal elétrico ao longo do conector sem interferência do sinal recolhido pelo corpo do conector, recorrendo-se para tal ao isolamento dos sinais elétricos por Teflon [71].

Uma imagem do conector pode ser observada na figura 18.



Figura 18 - Conector utilizado para a normalização do processo de medição em RF.

## 4. Resultados e Discussão

Neste capítulo será abordada a metodologia e os passos efetuados nas diversas etapas de produção e caracterização do sensor. Este conjunto de procedimentos são apresentados e discutidos de modo a fornecer informação sobre os resultados obtidos e as necessidades de adaptação dos vários processos de produção.

O projeto visionado consiste na deposição de um elemento piezoelétrico, PVDF-TrFE, entre duas camadas de um elemento condutor, Titânio. A otimização do sistema encontra-se dependente do método de análise adotado e das necessidades inerentes à diminuição de ruído e interferências através de impedâncias.

A figura 19 representa a hierarquia de multicamadas desejada, obtendo-se um suporte rígido em vidro, uma camada de PVDF-TrFE entre dois elétrodos de Titânio e uma camada composta por um elemento bio-sensível seletível a determinado analito.

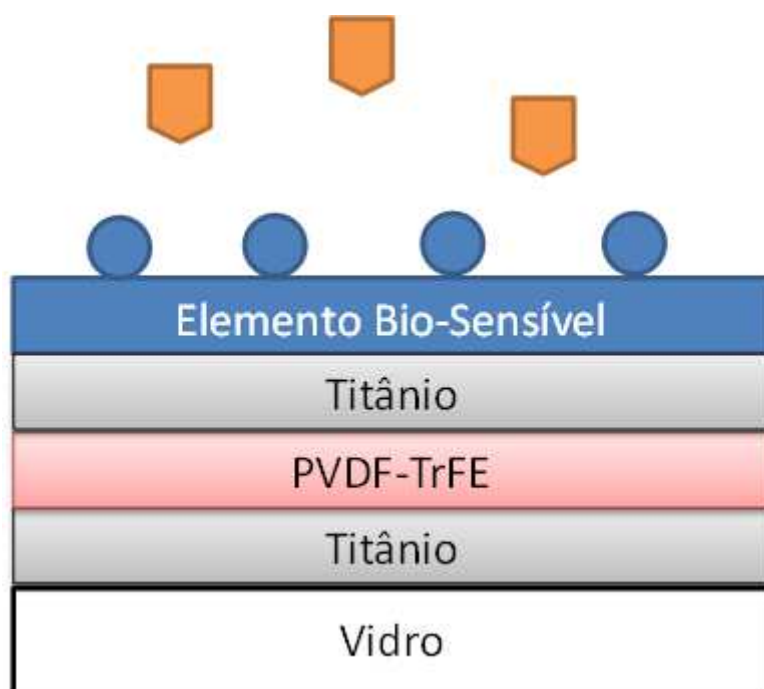


Figura 19 – Esquema da hierarquia de multicamadas pretendida.

## 4.1.Modelo #1

O desenho inicial consistiu na deposição de uma camada de Titânio sobre uma lâmina ou lamela de vidro. Esta camada atua como elétrodo inferior permitindo a transferência de carga ao longo da amostra. De modo a isolar o contato com um conector, fitas de cobre foram depositadas nas duas faces da amostra permitindo a transferência da carga para a face inferior do vidro. Um filme de PVDF-TrFE fora depositada sobre a camada de Titânio, sendo posteriormente polarizado segundo um processo de Polarização por Descarga Corona. Uma última camada de Titânio foi depositada sobre o filme de PVDF-TrFE, em padrões específicos, com o intuito de aproveitar a área ativa da amostra para a criação de vários sensores. Testes de caraterização foram efetuados em todos os passos.

### 4.1.1. Camada inferior de Titânio

Ensaio preliminares foram efetuados com o intuito de testar a adesão do Titânio a lâminas de vidro, determinar a sua resistividade e confirmar a taxa de deposição. As deposições foram efetuadas através do método de Pulverização Catódica por Magnetron em condições de trabalho otimizadas pelo grupo de investigação [72]:

$$I = 1,5 \text{ A}$$

$$P_i = 5,2\text{E-}6 \text{ mbar}$$

$$P_f = 1,0\text{E-}2 \text{ mbar}$$

$$\phi_{Ar} = 12\% \text{ de } 500 \text{ sccm}$$

Onde  $I$  representa a corrente aplicada,  $P_i$  representa a pressão dentro da câmara antes da introdução do gás de trabalho,  $P_f$  representa a pressão após a introdução do gás de trabalho e  $\phi_{Ar}$  o fluxo de Árgon em “*Standard Cubic Centimeters per Minute*”.

Os tempos de deposição variaram entre 150, 300, 450 e 600 seg, tendo sido depositadas 6 amostras por cada variável, como se pode observar na figura 20.





Figura 20 - Resultados do processo de Deposição do filme de Titânio.

O estudo da topografia das amostras foi realizado através das técnicas SEM e de Perfilometria. Através da última, foi possível identificar a espessura de cada uma das amostras e confirmar a taxa de deposição de  $20 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ , obtendo-se amostras com 50, 100, 150 e 200 nm de espessura para cada um dos respectivos tempos de deposição.

A análise através de SEM permite identificar um crescimento do filme em colunas, característico do processo de deposição através de Pulverização Catódica por Magnetron, como se pode observar na figura 21. Algumas partículas de poeira são também detetadas visto todo o processo não ter sido efetuado numa Sala Limpa.

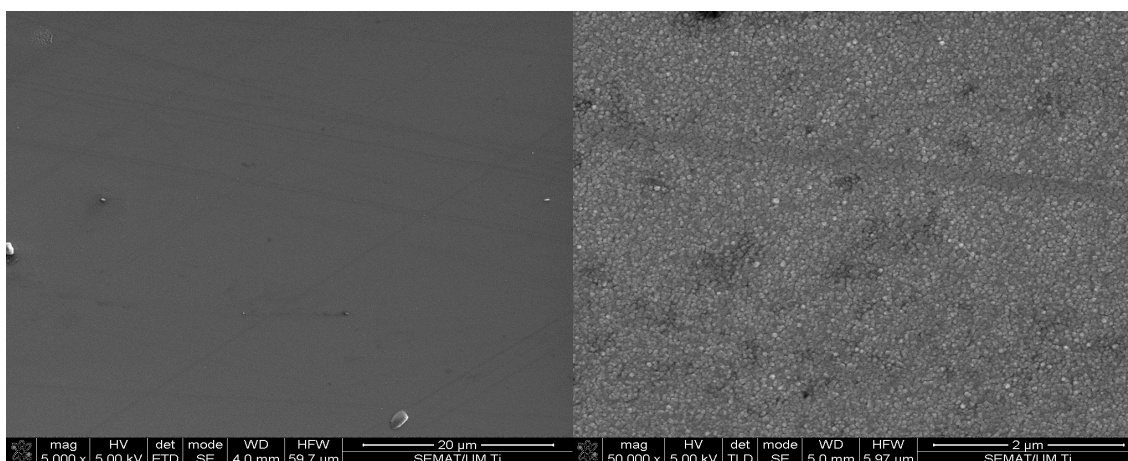


Figura 21 - Imagens da topografia de amostras de Ti obtidas através de SEM, com ampliações de 5000 e 50000 vezes.

Partículas de poeira e outros sedimentos podem causar curto-circuitos caso permitam o contato físico entre as camadas inferiores e superiores de Titânio. Contudo, estas poeiras apresentam dimensões inferiores a  $1\mu\text{m}$ , valor inferior à espessura prevista do filme de PVDF-TrFE a depositar.

O estudo da Resistividade das amostras foi efetuado através de medidas de resistividade por 4 pontas. Estes testes pretendem analisar a uniformidade do processo de deposição, procurando identificar falhas associadas à variação na resistividade. Seis amostras para cada espessura foram analisadas, procedendo-se à análise da média dos valores obtidos, como se observa na figura 22. Os registos permitiram observar uma homogeneidade entre as amostras, encontrando-se maioritariamente variações inferiores a 5% entre as várias amostras dentro de cada grupo.

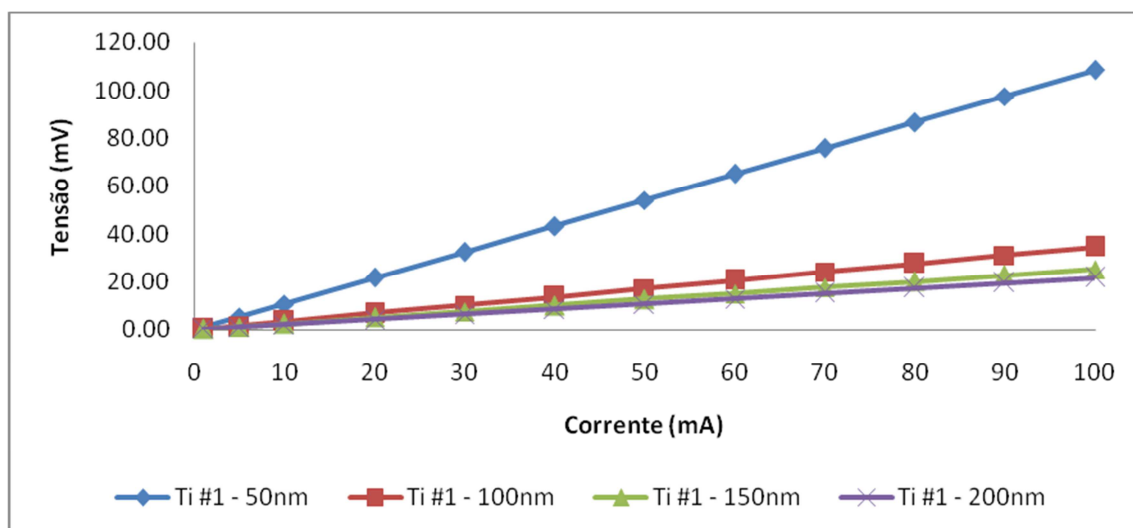


Figura 22 - Gráfico da média da variação do Potencial com o aumento da Intensidade de Corrente para as amostras de Ti #1.

Recorrendo à equação que permite a determinação da resistividade superficial e volúmica através dos valores de corrente e tensão registados, observam-se os seguintes valores para as diferentes espessuras:

**Tabela 1 - Registos da Resistividade Superficial e Volúmica para as amostras de Ti.**

<b>Espessura (nm)</b>	<b>Resistividade Superficial (<math>\Omega/\text{square}</math>)</b>	<b>Resistividade Volúmica (<math>\Omega.\text{m}</math>)</b>
<b>50</b>	4,83	2,42E-07
<b>100</b>	1,54	1,54E-07
<b>150</b>	1,17	1,76E-07
<b>200</b>	0,96	1,92E-07

Embora a Resistividade Superficial das amostras de 200 nm apresente o menor valor, o que representa uma menor resistência à passagem de corrente e por consequente um maior ganho, a análise da Resistividade Volúmica demonstra que as amostras com uma espessura de 100 nm possuem as melhores propriedades elétricas. Contudo, excetuando os valores registados para as amostras com 50 nm, as restantes espessuras apresentam valores de resistividade superficial e volúmica muito semelhantes. Os valores registados para 100, 150 e 200 nm resultam numa Resistividade Superficial média de  $1,22 \pm 0,26 \Omega/\text{square}$  e numa Resistividade Volúmica média de  $1,74 \pm 0,20 \Omega/\text{m}$ . Os resultados registados nas amostras de 50 nm podem ser explicados devido à reduzida dimensão do filme. Visto apenas uma fina camada de átomos ter sido depositada, defeitos na estrutura possuem maior influência que em camadas mais espessas.

Uma observação a olho nú das quatro séries de amostras permite identificar uma ligeira desassociação de partículas de Titânio para amostras com 150 e 200 nm de espessura, tal como se pode observar na figura 23. Esta fraca adesão potencializa o aparecimento de falhas no interior da matriz, criando-se assim barreiras à passagem de corrente que por consequência resultam no aumento das impedâncias.



**Figura 23 - Degradação visível das amostras de Titânio com 150 e 200 nm.**

Sendo a adesão dos vários componentes um fator essencial no desenho do sistema, assegurando a uniformidade das diversas camadas e o mínimo de impedâncias possíveis, optou-se pelo uso de amostras com 100 nm de espessura. De entre os quatro grupos, estas apresentam a menor Resistividade mantendo ainda uma baixa degradabilidade.

Analisando a “*Skin Depth*” para o Titânio (Capítulo 1.3) através da equação 9,

$$\delta = \sqrt{\frac{2\rho}{2\pi f \mu_0 \mu_R}} \quad (9)$$

Observa-se que o Titânio possui uma “*Skin Depth*” de:

$$\delta_{Ti} = 5,03E02 \sqrt{\frac{1}{f}} \quad (10)$$

Para uma gama de frequências entre 1 kHz e 10 GHz, tal como demonstrado na tabela 2, pode-se observar que é necessário atingir frequências muito elevadas para conseguir obter uma “*Skin Depth*” reduzida. Torna-se, contudo, impossível trabalhar na gama das centenas de GHz para micro- e nanodispositivos.

A estratégia consistiu na deposição de filmes de PVDF-TrFE com a menor espessura possível. Como é possível observar pela equação 11, quanto menor for a espessura, maior será a frequência de ressonância.

$$F_R = \frac{v}{2t} = \frac{2.2 \times 10^3}{2t} \quad (11)$$

**Tabela 2- *Skin Depth* do Titânio para a gama de frequências de 1 kHz até 10 GHz.**

$f$ (Hz)	$\delta_{Ti}$ (m)
<b>1E03</b>	1,03E-02
<b>1E04</b>	3,26E-03
<b>1E05</b>	1,03E-03
<b>1E06</b>	3,26E-04
<b>1E07</b>	1,03E-04
<b>1E08</b>	3,26E-05
<b>1E09</b>	1,03E-05
<b>1E10</b>	3,26E-06

#### ***4.1.2. Elemento Piezoelétrico: PVDF-TrFE***

Para a criação do biossensor, a deposição de um elemento piezoelétrico é essencial. Contudo, a área de uma lâmina de vidro com 7,5 cm de comprimento é demasiado grande para um único sensor e a integração de vários sensores numa mesma lâmina não permite a separação física de impedâncias e outras interferências. Do mesmo modo, o processo de deposição do PVDF-TrFE requer amostras quadradas para assegurar uma uniformidade do filme depositado. Assim, todas as lâminas foram cortadas em 3 com dimensões aproximadamente idênticas.

O PVDF-TrFE, como elemento transdutor, necessita de encontrar-se em contato direto com as duas camadas condutoras. Estas, por sua vez, necessitam de estar em contato com um conector de modo a poderem receber e transmitir o sinal elétrico. A camada de PVDF-TrFE, depositada através do processo de *Spin-Coating* (Capítulo 2.2.1), cobre por completo a superfície onde esta é formada impedindo o acesso à camada condutora inferior. O contato da camada inferior de Titânio ao conector deve portanto ser isolado do processo de deposição.

Uma primeira tentativa de resolver este problema consistiu na transferência do sinal de ligação da face superior da lâmina de vidro para a face inferior através de uma tira de cobre com aproximadamente 1 cm de largura. Esta envolve a amostra numa das

extremidades, permitindo o melhor aproveitamento da área ativa do sensor. Na face inferior do vidro tornou-se necessário criar um pequeno caminho elétrico para transferir equitativamente o sinal até duas faces opostas e equidistantes. Na figura 24 podem-se observar as faces superior e inferior após a adição das tiras de cobre.

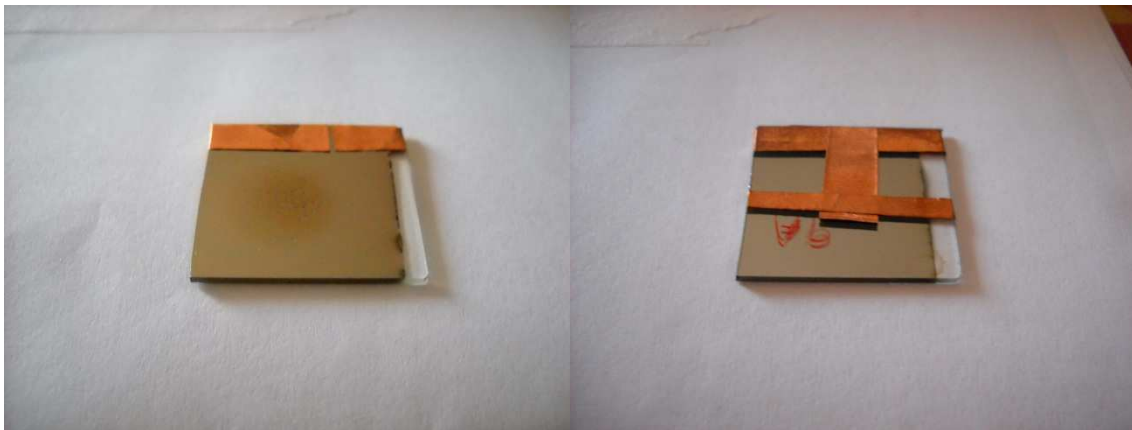


Figura 24 – Amostras de Ti com tiras de Cu para a transferência do sinal elétrico desde a face superior (esquerda) para a face inferior (direita).

Isolando o contato com a face inferior torna-se possível depositar o PVDF-TrFE em toda a superfície da amostra. As condições de trabalho utilizadas [73]:

**Solução PVDF-TrFE (10% em volume):**

2,11 g de PVDF-TrFE

10 ml DNF

Mistura por agitação magnética a 300 rpm durante 5h

**Spin-Coating:**

1º passo → 5 seg a 500 rpm com  $a = 300 \text{ rpm. seg}$

2º passo → 40 seg a 3000 rpm com  $a = 300 \text{ rpm. seg}$

**Tratamento Térmico:**

Placa de aquecimento a 70°C

O resultado obtido é um filme transparente com 2,6 $\mu$ m de espessura que se deposita em toda a superfície superior da amostra, confirmado por Perfilometria. Este valor é mais de 2 vezes superior ao valor máximo de poeiras observado, pelo que embora possam causar impedâncias no sistema, estas não são significativas para causar curto-circuito.

A estrutura e topografia da camada piezoelétrica de PVDF-TrFE foram também aferidas através de SEM. Como se observa na figura 25, a cristalização do polímero ocorre segundo uma orientação esferulítica e não segundo uma orientação fibrilar, como seria esperado [73]. É, portanto, uma indicação da interferência da camada inferior de Ti. Ao contrário dos resultados obtidos para a padronização do processo e das condições de deposição, o PVDF-TrFE fora depositado não sobre vidro, mas sim sobre Titânio. Estes testes revelam a necessidade de otimização do processo de deposição consoante as propriedades e características do substrato onde a deposição ocorre.

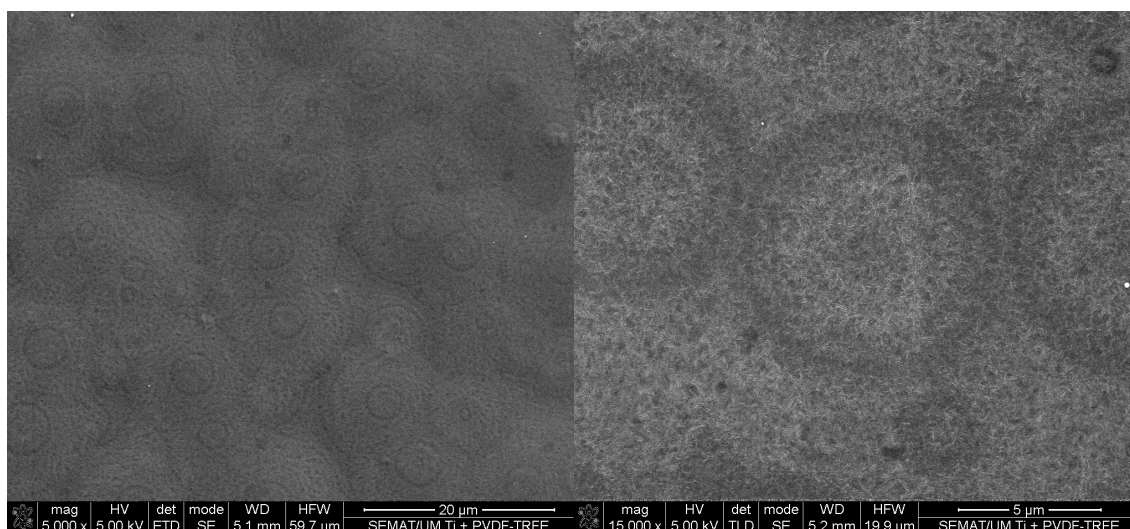


Figura 25 - Imagens da topografia de amostras de PVDF-TrFE sobre Ti, obtidas através de SEM, a uma ampliação de 5000 e 15000 vezes.

No entanto, observando com uma ampliação de 50000 vezes, é possível observar um crescimento fibrilar semi uniforme, tal como seria esperado a nível micrométrico e nanométrico. Observa-se principalmente uma estrutura não porosa, o que é de interesse para o desenvolvimento do sensor. Caso o filme polimérico apresentasse uma estrutura porosa, a deposição do eletrodo superior poderia resultar na criação de um circuito elétrico entre os dois eletrodos, e portanto, inviabilizando o sensor.

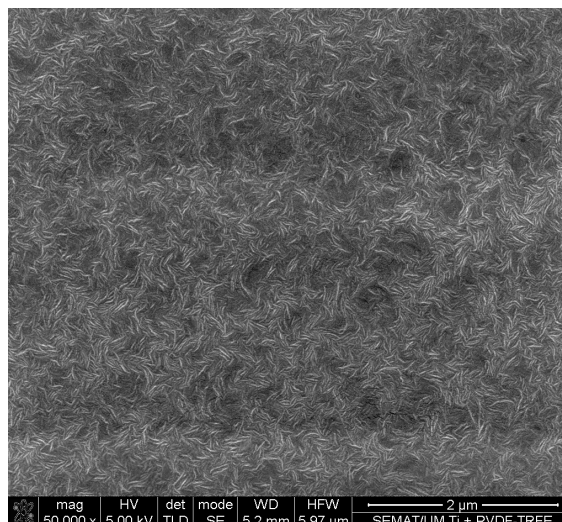


Figura 26 - Imagem da topografia de amostras de PVDF-TrFE TrFE sobre Ti, obtidas através de SEM, a uma ampliação de 50000 vezes.

Estes resultados demonstram o sucesso do processo de deposição e obtenção de filmes finos de PVDF-TrFE sobre Ti. Numa primeira tentativa de polarização, recorreu-se ao processo de Descarga Corona com 1 ponta nas seguintes condições padronizadas [73]:

**Polarização por Descarga Corona**

*Temperatura: 120 °C*

*Corrente: 15  $\mu$ A*

*Tensão: 10 kV*

*Distância: 2 cm*

*Tempo: 30 min*

Os valores de Corrente e Tensão escolhidos encontravam-se na gama de valores mínimos atingíveis pelo instrumento, isto é, diminuindo a corrente ou a tensão abaixo desses valores não se formaria um campo elétrico. A temperatura foi elevada até 120°C com o intuito de facilitar a reorientação molecular dentro do polímero coma aplicação contínua do campo elétrico. Após atingidos os 120°C, a temperatura e campo elétrico foram mantidos durante 30 min, após os quais se desligou a fonte de temperatura e manteve-se o campo elétrico até a temperatura atingir os 26 °C. Este último passo é crucial para garantir que as moléculas de PVDF-TrFE mantenham a orientação polarizada. A distância da ponta de polarização à amostra foi fixada em 2 cm.



Devido à reduzida distância a que o campo elétrico foi aplicado, em conjunto com a reduzida espessura do filme de PVDF-TrFE (todos os ensaios padronizados haviam sido efetuados com amostras de 30  $\mu\text{m}$ ), observou-se a formação de arcos elétricos em 4 de 8 amostras, como demonstrado na figura 27. Não é contudo garantido que 3 das outras 4 não possuíssem também arcos e que estes não fossem identificados devido à geometria circular, de área reduzida, dos elétrodos superiores.

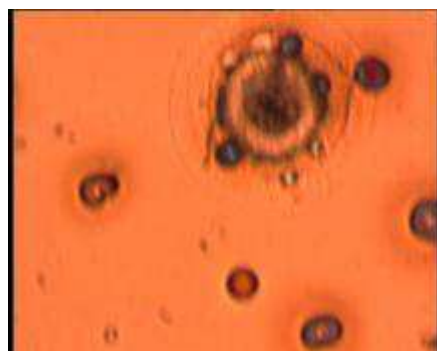


Figura 27 - Imagem microscópica do efeito de um arco elétrico sobre uma amostra de PVDF-TrFE.

#### ***4.1.3. Camada superior de Titânio***

A deposição da camada superior de Titânio em cada uma das amostras decorreu através do mesmo método, e nas mesmas condições, que a camada inferior. Contudo, foi necessário recorrer-se à construção de máscaras devido à necessidade de:

- Se aproveitar a superfície para a construção do máximo de sensores num mesmo dispositivo;
- Se assegurar que não ocorressem fenómenos de condução elétrica através do ar nas extremidades;
- Se aproveitar o máximo de área ativa.

Estas máscaras foram construídas manualmente em folhas de acetato. A área das amostras permitiu a construção de 2 sensores isolados, tal como se pode observar na figura 28, sendo que este número pode ser substancialmente aumentado caso, no futuro, se proceda à miniaturização dos componentes de leitura de sinal. Foram ainda utilizadas máscaras circulares comerciais, como controle.

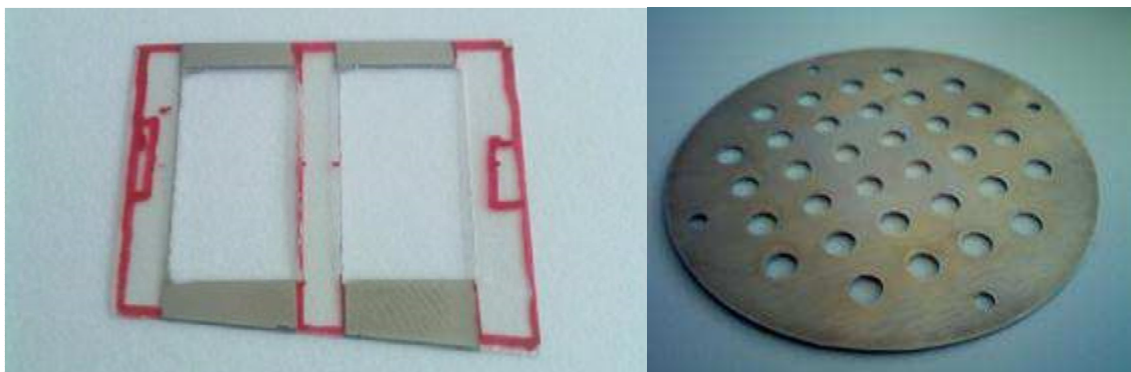


Figura 28 - Máscara personalizada criadas a partir de folhas de acetato (esquerda) e Máscara circular utilizada como controle no processo de deposição (direita).

Das oito amostras preparadas, quatro foram depositadas com cada uma das máscaras. A escolha das amostras por máscara foi aleatória, visto todas elas terem sido sujeitas aos mesmos procedimentos. Os resultados finais podem ser observados nas figuras 29 e 30.



Figura 29 - Amostras de Ti-(PVDF-TrFE)-Ti através da utilização de máscaras personalizadas. Vista de cima (esquerda), vista de baixo (direita).

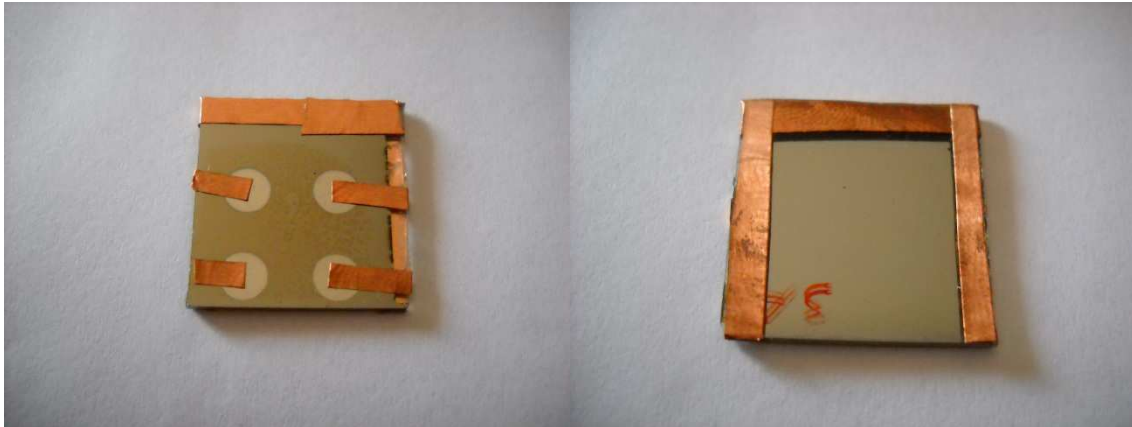


Figura 30 - Amostras de Ti-(PVDF-TrFE)-Ti através da utilização de máscaras circulares. Vista de cima (esquerda), vista de baixo (direita).

As análises de RF demonstraram alguns problemas com os modelos utilizados. Por um lado, a utilização das máscaras personalizadas não acarretou problemas para com a medição de RF. Já por sua vez, visto as máscaras circulares produzirem um padrão pequeno, impossibilitando a ligação direta do conector à camada metálica superior, foi necessário recorrer a tiras de cobre para fazer a ligação até à extremidade. O uso destas tiras metálicas, tanto na face superior como inferior, demonstrou apresentar o maior desafio com a introdução de impedâncias associadas. Embora todos os dispositivos tenham sido preparados de igual modo, em processos automatizados, as tiras de cobre utilizadas em cada um deles foram cortadas à mão, pelo que, tratando-se de dispositivos à escala nanométrica e micrométrica, uma pequena variação altera significativamente os resultados. Deste modo, apesar de ter sido possível proceder à deposição de todas as camadas essenciais para o funcionamento do sensor, e apesar deste transmitir um sinal elétrico, não foi possível obter resultados idênticos para delinear um padrão.

Uma segunda tentativa foi efetuada com uma alteração ao modelo de máscaras.

## 4.2. Modelo #2

As alterações ao desenho do sensor consistiram na adaptação do processo de deposição por *Spin-Coating*. Recorreu-se ao uso de fita de salas limpas de modo a bloquear fisicamente a deposição de PVDF-TrFE sobre as áreas de contato com o conector. Ensaaios de Polarização por Pratos Paralelos foram adicionados ao rol de testes efetuados, bem como a adaptação das condições de Polarização por Descarga Corona. Testes de caracterização foram efetuados em todos os passos.

### 4.2.1. Camada inferior de Titânio

O processo de deposição desta camada teve de sofrer algumas alterações. Um problema técnico com o instrumento de deposição, mais especificamente com a bomba de vácuo, não permitiu atingir pressões tão baixas. No entanto, estas mantiveram-se dentro da mesma ordem de grandeza. As condições de trabalho foram as seguintes:

$$I = 1,5 \text{ A}$$

$$P_i = 3,6\text{E-}6 \text{ mbar}$$

$$P_f = 1,0\text{E-}2 \text{ mbar}$$

$$\phi_{Ar} = 12\% \text{ de } 500 \text{ sccm}$$

Não se observaram, alterações significativas na espessura da camada depositada, encontrando-se esta na ordem dos 100 nm. Também a olho nú não se identificaram problemas de adesão com a lâmina de vidro, como se pode observar na figura 31.



Figura 31 - Resultado do processo de Deposição do elétrico inferior no modelo #2.

#### ***4.2.2. Elemento Piezoelétrico: PVDF-TrFE***

A grande diferença para com o modelo anterior prende-se com as alterações aplicadas ao método de deposição da camada de PVDF-TrFE. De modo a padronizar o processo de leitura e aproveitar ao máximo as especificidades dos conetores, optou-se por adaptar uma máscara ao processo de deposição. Duas tiras de fita de salas limpas, fita com um baixo grau de adesão, foram colocadas em faces opostas de cada amostra, encontrando-se em contato em apenas 2 mm, tal como é possível observar na figura 32.

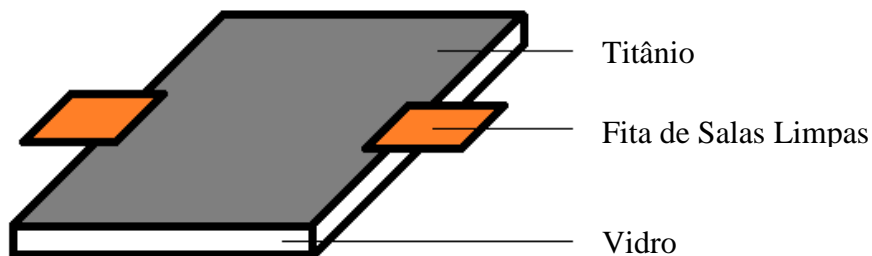


Figura 32 - Esquema da aplicação de máscaras no processo de *Spin-Coating* para o isolamento da zona de contato.

Estas máscaras têm o intuito de impedir a deposição do PVDF-TrFE sobre as áreas que protegem, deixando assim um canal de contato do eletrodo inferior com o conector. A deposição ocorreu nas mesmas condições:

##### **Solução PVDF-TrFE (10% em volume):**

1,06 g de PVDF-TrFE

5 ml DNF

Mistura por agitação magnética a 300 rpm durante 5h

##### **Spin-Coating:**

1º passo → 5 seg a 500 rpm com  $a = 300 \text{ rpm} \cdot \text{seg}$

2º passo → 40 seg a 3000 rpm com  $a = 300 \text{ rpm} \cdot \text{seg}$

##### **Tratamento Térmico:**

Placa de aquecimento a 70°C

Após a deposição do filme de PVDF-TrFE as tiras foram removidas procurando causar o menor dano possível à camada inferior de Titânio. Este passo deve ser realizado antes do tratamento térmico na placa de aquecimento, previamente à evaporação do solvente e solidificação do filme. Observou-se, no entanto, que em algumas amostras parte da camada de Titânio foi removida. Este é um procedimento que ainda necessita de ser otimizado mas que demonstrou resultados positivos.

Devido à ineficácia observada na primeira tentativa de polarização, procurou-se corrigir o procedimento do processo de Polarização por Descarga Corona e explorar o processo de Polarização por Pratos Paralelos, segundo os seguintes passos:

**Polarização por Descarga Corona**

*Temperatura: 120 °C*

*Corrente: 15  $\mu$ A*

*Tensão: 10 kV*

*Distância: 2,5 cm*

*Tempo: 30 min*

**Polarização por Pratos**

*Temperatura: ambiente*

*Tensão: 200 V, 10 min*

*Tensão: 300 V, 10 min*

*Tensão: 400 V, 10 min*

A adaptação ao procedimento de Polarização por Descarga Corona consistiu no aumento da distância da ponta de polarização à amostra em 0,5 cm para os 2,5 cm, e o aumento de 1 para 9 pontas. Observou-se notoriamente uma melhoria na qualidade final, não se observando, a olho nú ou ao microscópio, a formação de arcos elétricos.

O procedimento de Polarização por Pratos teve de ser padronizado desde o início. Um primeiro passo experimental consistiu no registo do ponto de rutura do filme de PVDF-TrFE, subindo-se gradualmente a tensão. Observou-se que a partir dos 500 V as amostras de PVDF-TrFE degradavam-se irremediavelmente. Assim sendo, foi estipulada uma tensão máxima de 400 V. Nenhuma das amostras polarizadas por este método apresentaram, a olho nú ou ao microscópio, marcas visíveis de dano ao filme polimérico, apresentando-se assim este processo como uma alternativa viável.

### 4.2.3. Camada superior de Titânio

A deposição da camada superior de Titânio seguiu a mesma lógica que no Modelo anterior. Contudo, devido às dificuldades de medição associadas ao uso das máscaras circulares, foram utilizadas apenas máscaras personalizadas. A deposição decorreu nas mesmas condições que o eletrodo inferior:

$$I = 1,5 \text{ A}$$

$$P_i = 3,6\text{E-}6 \text{ mbar}$$

$$P_f = 1,0\text{E-}2 \text{ mbar}$$

$$\phi_{Ar} = 12\% \text{ de } 500 \text{ sccm}$$

Os resultados finais podem ser observados na figura 33:



Figura 33 - Resultado do processo de deposição do eletrodo superior de Ti (padrões rectangulares no centro). Destaque para o isolamento do contato com o eletrodo inferior (padrões rectangulares nas faces laterais).

Imagens de SEM, figura 34, sobre a camada de Titânio depositada demonstram a presença de micro-rugosidades inerentes ao fato desta camada ter sido depositada sobre um filme fino polimérico. Segundo um prisma mais detalhado, não se observam problemas a nível nanométrico com a deposição nestas rugosidades, encontrando-se desse modo o circuito completo e funcional. É possível ainda verificar-se e confirmar-se a presença de contaminantes como consequência do processamento das amostras em salas não limpas.

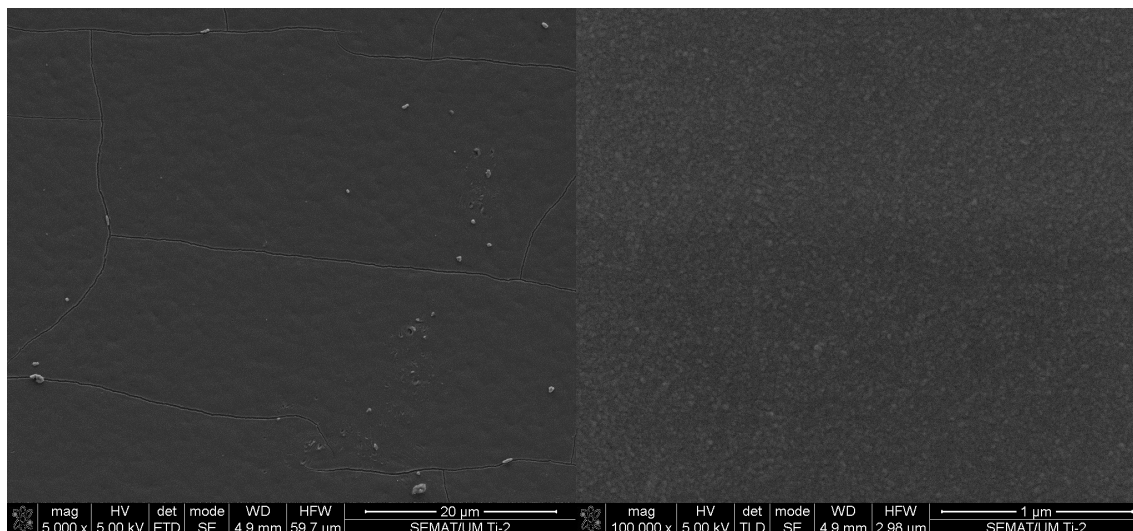


Figura 34 - Imagens da topografia de amostras de Ti sobre PVDF-TrFE/Ti, obtidas através de SEM, com ampliações de 5000 e 100000 vezes.

Através de imagens de SEM é possível ainda observar a presença de fraturas, apresentadas na figura 35, com cerca de 170 nm de diâmetro e vários μm de comprimento, ao longo do filme de Titânio. Estas fraturas podem ser consequência das tensões residuais formadas aquando do processo de deposição e requerem mais estudo.

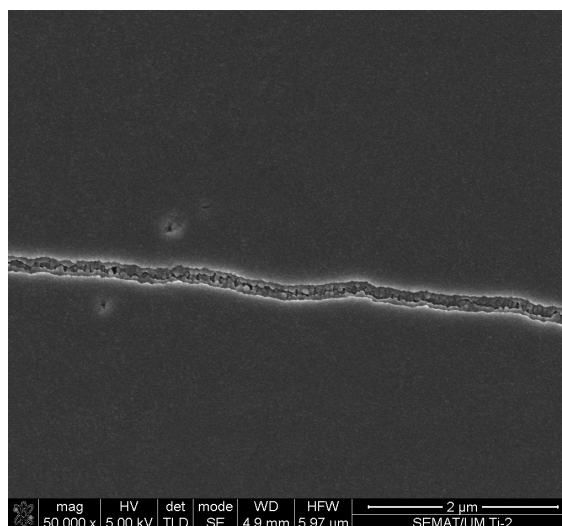


Figura 35 - Imagem da topografia de amostras de Ti sobre PVDF-TrFE/Ti, obtidas através de SEM, com ampliação de 50000 vezes.



As medições em RF revelaram que, embora as leituras fossem bastante semelhantes, o que permitiria a criação de um padrão de leitura, existiam ainda impedâncias elevadas que necessitariam de correção. Notou-se uma pequena folga entre o conector e as amostras que interferia na leitura dos resultados, pelo que foi portanto visionado a fixação dos conectores nas amostras através de Cola de Prata condutora e Super-Cola isolante, tal como se pode observar na figura 36.

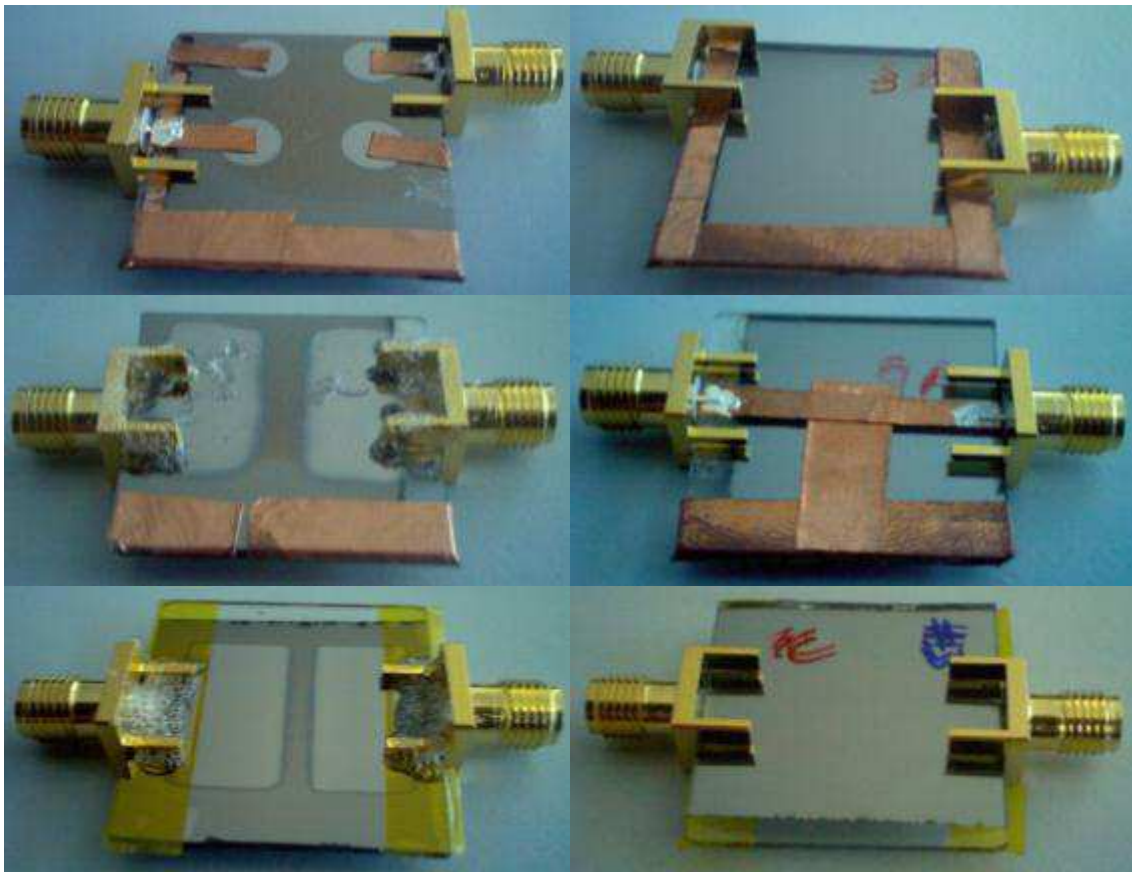


Figura 36 - Resultado da imobilização dos contatos às amostras. Vista superior (esquerda) e inferior (direita).

Este procedimento, no entanto, está dependente das limitações impostas pelo processo de funcionalização, podendo ter de ser realizado apenas no final e sendo necessário assim proceder ao isolamento dos contatos. A deposição de PVDF-TrFE sobre o sensor através da técnica de *Spin-Coating*, a título de exemplo, requer a imobilização das amostras sobre um substrato plano, processo esse atrapalhado pela presença dos conectores. A presença de uma folga, no processo de *Spin-Coating*, resultaria na incapacidade de se formar vácuo, e portanto, na inviabilidade de deposição.

#### 4.2.4. Elemento Bio-Sensível

A deposição de um filme polimérico de PVDF-TrFE para a detecção de uma biomolécula baseou-se em trabalhos realizados pelo grupo de investigação. Observou-se que as moléculas de Fibronectina aderiam com sucesso à superfície polarizada de PVDF-TrFE. Tal evento deve-se ao fato das moléculas de Fibronectina possuírem um Ponto Isoelétrico de 4,9 e não devido a alguma especificidade para com o filme polimérico[74]. No entanto, este passo experimental tem como intuito testar a viabilidade do processo, sendo possível mais tarde otimizar os processos de funcionalização.

Tal como aquando da deposição de PVDF-TrFE para a camada piezoelétrica, também aqui existe a necessidade de isolamento local de contato com o conetor. No entanto, colocar e remover uma fita sobre o conjunto de Ti-(PVDF-TrFE)-Ti iria destruir o sensor, removendo tanto a camada superior de Ti como a própria camada piezoelétrica. Embora essa área não seja parte constituinte da área ativa do sensor, a quebra do percurso eletrónico poderia impossibilitar a transferência de carga ao longo da amostra. Assim sendo, foi idealizado a colocação de uma fita isoladora que impedisse a deposição sobre as áreas de contato com o conetor, mas que ao mesmo tempo fosse possível remover a própria fita, após a deposição, para permitir o contato. Recorreu-se ao auxílio de tiras de acetato para impedir a ligação da fita à área de contato. O resultado pode ser observado na figura 37.

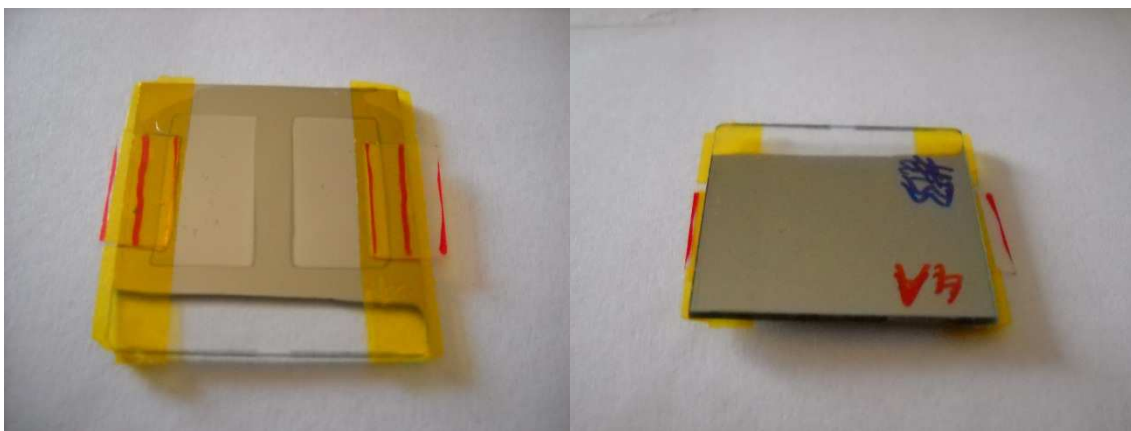


Figura 37 – Máscaras utilizadas no processo de *Spin-Coating* para o isolamento das zonas de contato. Vista de cima (esquerda) e vista de baixo (direita).

Após a deposição da camada de PVDF-TrFE as tiras de acetato (delimitadas a vermelho) foram removidas com o auxílio de um bisturi. Contudo, a deposição através do processo já padronizado de *Spin-Coating* demonstrou mais dificuldades que o antecipado. Seguindo o mesmo procedimento:

**Solução PVDF-TrFE (10% em volume):**

0,68 g de PVDF-TrFE

3,2 ml DNF

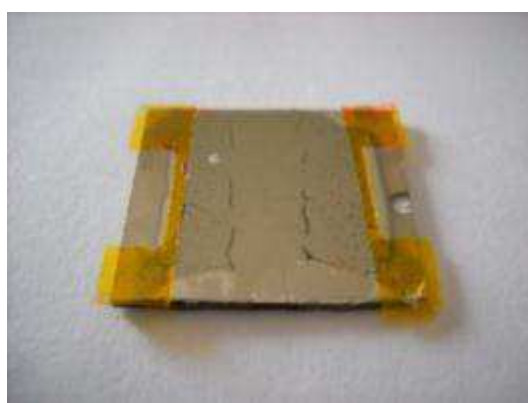
Mistura por agitação magnética a 300 rpm durante 5h

O processo de *Spin-Coating* foi adaptado segundo as seguintes condições:

**Tabela 3 - Registo de condições do processo de Deposição por *Spin-Coating*.**

Amostra	1º passo			2º passo		
	v (rpm)	a (rpm.sec)	t (seg)	v (rpm)	a (rpm.sec)	t (seg)
<b>2B</b>	500	300	5	3000	300	40
<b>4B</b>	100	300	5	1000	300	40
<b>3B</b>	50	50	5	500	50	40

Observando-se os seguintes resultados:



**Figura 38–Resultado do processo de funcionalização nas condições descritas na tabela 3. Amostra 2B.**



Figura 39 - Resultado do processo de funcionalização nas condições descritas na tabela 3.  
Amostra 4B (esquerda) e 3B (direita).

Estes resultados encontram-se longe do esperado. Não é possível, a olho nú ou ao microscópio, observar-se nitidamente as condições em que as várias camadas se encontram. É possível presumir que, devido à irregularidade e elasticidade do filme de PVDF-TrFE, a camada superior de Titânio não possui nem a homogeneidade nem a força de adesão entre si para manter a sua identidade aquando da deposição da camada bio-sensível. O movimento circular de dispersão molecular, característico do processo de deposição, pode abrasar e remover esta última camada de Titânio, destruindo o sensor. Condições tal como a densidade da solução, a taxa de evaporação, de cristalização e a espessura do filme a depositar podem alterar o resultado final.

Imagens de SEM corroboram esta suposição, tal como se pode observar na figura 40, confirmando-se com análise de EDX a presença de aglomerados de Titânio à superfície do filme. Estes aglomerados indicam que o filme de Titânio, depositado previamente como elétrodo superior, fora removido, inviabilizando o sensor. Estes aglomerados apresentam-se distribuídos de forma aleatória e heterogénea, sendo necessário o estudo aprofundado dos mecanismos que influenciam as interações entre camadas.

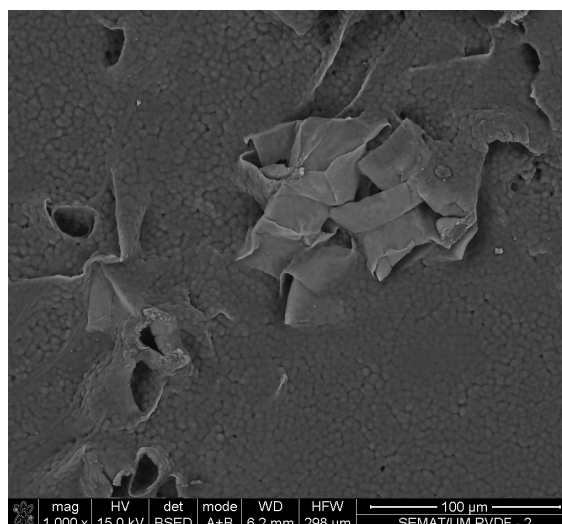


Figura 40 - Imagens da topografia de amostras de PVDF-TrFE sobre Ti/PVDF-TrFE/Ti, obtidas através de SEM, com ampliação de 1000 vezes.

O filme de PVDF-TrFE depositado não apresenta, contudo, anormalidades, como observado na figura 41. Embora as condições de fabrico e deposição tenham sido semelhantes às da camada piezoelétrica, as condições de processamento variaram, inclusivamente por não ter sido efetuado tratamento térmico na placa de aquecimento posterior à deposição. A própria estrutura em que o filme assenta não é linear nem homogênea, o que também influencia a estrutura final do filme. Este efeito deverá ser alvo de uma investigação sistemática.

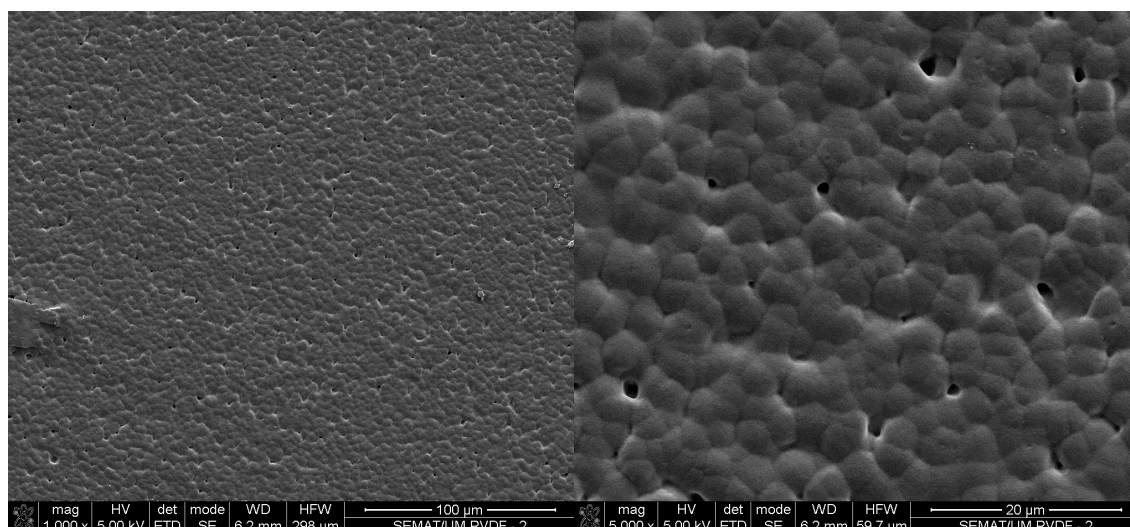


Figura 41 - Imagens da topografia de amostras de PVDF-TrFE sobre Ti/PVDF-TrFE/Ti, obtidas através de SEM, com ampliação de 1000 e 5000 vezes.

De modo a perceber a dinâmica por detrás deste processo, foram realizados mais alguns ensaios recorrendo a alterações ao próprio método de deposição. A figura 42 representa uma tentativa de deposição sem recorrer ao processo de *spin-coating*, colocando-se um excedente de PVDF-TrFE em forma solúvel sobre a amostra e posteriormente na placa de aquecimento a 70°C durante 10 minutos. Observa-se uma mancha branca no centro da amostra representativa de um volume superior de PVDF-TrFE nessa zona, relativamente ao resto da amostra, onde os 10 minutos não foram suficientes para permitir a reorganização molecular numa fase não porosa.



Figura 42 – Amostra resultante da deposição de um excedente de PVDF-TrFE sem recorrer à técnica de *Spin-Coating*.

Esta mancha branca, característica de filmes de PVDF-TrFE porosos, é perfeitamente identificável na figura 43. À esquerda uma única gota de PVDF-TrFE na fase solúvel é colocada sobre a amostra. À direita, um pincel foi utilizado para espalhar o PVDF-TrFE. A amostra sofreu o tratamento térmico à temperatura ambiente, daí a confirmação da deposição em forma porosa do filme polimérico. Neste ensaio foi utilizada uma amostra do Modelo #1 devido à quantidade limitada de amostras disponíveis para ensaios e visto não se tratar de um ensaio crucial.





Figura 43 – Deposição de PVDF-TrFE na forma de uma gota (esquerda) e através de um pincel (direita). Amostra Modelo #1.

Um último ensaio foi realizado utilizando as mesmas condições que na amostra 2B, mas em uma amostra também do Modelo #1. O resultado pode ser observado na figura 48. A diferença entre amostras é significativa. Tal pode dever-se ao processo de deposição da camada superior, que no Modelo #2 sofreu uma ligeira alteração na pressão inicial de trabalho, ou no processo de polarização da camada piezoelétrica, alterando a força de ligação às moléculas de Titânio depositadas posteriormente.



Figura 44 - Resultado do processo de funcionalização nas condições descritas para a Amostra 2B da tabela 3. Amostra Modelo #1.

A deposição do PVDF-TrFE, nestas condições, apresenta problemas inviabilizando o projeto. Observa-se claramente uma remoção das partículas de Titânio que formam o eletrodo superior, dissolvendo-as sobre a nova camada de PVDF-TrFE formada. Um

teste de controle, depositando-se PVDF-TrFE sobre uma camada única de Titânio (camada inferior) não demonstrou quaisquer problemas.

Uma das alternativas para a funcionalização do sensor pode passar pelo reforço dos elétrodos, depositando-se filmes mais espessos que possuam maior adesão e resistência. Contudo, o aumento da massa dos elétrodos, particularmente o superior, implica um aumento da massa associada ao sensor, e portanto, uma diminuição na sensibilidade. A procura de materiais condutores com melhores propriedades de adesão e resistência à abrasão também poderia solucionar o problema. Seria possível também o desenvolvimento de técnicas de adesão superficial entre as diversas camadas, seja através de tratamento químico ou utilização de materiais com elevada afinidade entre si.

Outra alternativa possível consiste na otimização dos processos de deposição do elemento transdutor, visando a obtenção de filmes mais homogêneos e menos rugosos. Deste modo, a deposição do eletrodo superior resultaria num filme também homogêneo e pouco rugoso, o que resultaria na redução da área superficial que sofreria atrito com a camada bio-sensível.

Uma última alternativa consistiria na procura e desenvolvimento de novas técnicas de funcionalização, recorrendo, por exemplo, aos processos de funcionalização através de ligações covalentes. Neste tipo de funcionalização é depositada uma camada de Ouro, elemento bastante suscetível a criar ligações covalentes com biomoléculas.

Contudo, a falta de tempo e recursos não permitiu a perseguição destas alternativas, sendo este um objetivo que fica reservado para trabalho futuro.



## 5. Conclusões

O desenvolvimento deste projeto apresentou uma série de dificuldades relacionadas com as reduzidas dimensões utilizadas em cada um dos componentes, associado com a dificuldade de processamento e leitura, que obrigaram à adaptação da ideia inicial.

A utilização do Titânio como eletrodo, embora possua vantagens em termos de biocompatibilidade e pouca reatividade oxidativa, impossibilita, através da técnica de Pulverização Catódica por Magnetron, a obtenção de filmes uniformes com espessuras superiores a 100 nm, traduzido no registo de elevadas impedâncias que diminuem a eficiência do sistema. Assim, são necessários novos métodos de deposição, ou novos materiais, para reduzir este efeito.

As análises topográficas dos diferentes passos revelaram a necessidade de mais estudo na tentativa de compreensão dos parâmetros que afetam as várias deposições. Estes parâmetros variam consoante as próprias condições a que os vários substratos vão sendo depositados e consoante o resultado da hierarquia de multi-camadas. É necessária uma otimização das condições de trabalho para potencializar a eficiência de cada um dos componentes.

Apesar de ter sido demonstrada a possibilidade de implementação de um sensor piezoelétrico, a sua funcionalização revelou-se problemática. São necessários, por isso, novos métodos de funcionalização para permitir a deteção de biomoléculas sem danificar a estrutura subjacente.

## 6. Trabalho Futuro

Algum trabalho futuro é ainda necessário para a conclusão deste projeto e para a obtenção de um protótipo de biossensor funcional. Esta tarefa envolve:

- Desenvolvimento de alternativas aos elétrodos utilizados, procurando um novo método ou material que permita a deposição de filmes mais espessos e menos densos, reduzindo assim as impedâncias, mas mantendo uma massa associada reduzida.
- Otimização dos parâmetros do processo de *Spin-coating* do PVDF-TrFE, envolvendo o estudo da alteração de propriedades como consequência do substrato onde as amostras são depositadas.
- Otimização do processo de funcionalização do sensor, envolvendo o estudo de novas técnicas de funcionalização que não danifiquem a estrutura subjacente.
- Avaliação e calibração do biossensor.

# Bibliografia

1. Kumar, A., *Biosensors Based on Piezoelectric Crystal Detectors: Theory and Application*. JOM, 2000. **52**(10).
2. Vo-Dinh, T.C., B., *Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics*. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 2000. **366**(6): p. 540-551.
3. Patacas, R., *Desenvolvimento, Caracterização e Otimização de um biossensor amperométrico para a determinação de Nitrato baseado em microinterfaces gelificadas*. 2007.
4. Davis, K.A.L., T.R., *Continuous liquid-phase piezoelectric biosensor for kinetic immunoassays*. Analytical Chemistry, 1989. **61**(11): p. 1227-1230.
5. Lin, H.-C.T., W.-C., *Piezoelectric crystal immunosensor for the detection of staphylococcal enterotoxin B*. Biosensors and Bioelectronics, 2003. **18**(12): p. 1479-1483.
6. Pohanka, M.P., O.; Skládal, P., *Diagnosis of tularemia using piezoelectric biosensor technology*. Talanta, 2007. **71**(2): p. 981-985.
7. Xu, T.e.a., *Micro-machined piezoelectric membrane-based immunosensor array*. Biosensors and Bioelectronics, 2008. **24**(4): p. 638-643.
8. Pohanka, M.P., O.; Skládal, P., *Label-Free Piezoelectric Immunosensor for Rapid Assay of Escherichia coli*. Journal of Immunoassay and Immunochemistry, 2007. **29**(1): p. 70-79.
9. Wang, L.J.e.a., *The Escherichia coli O157:H7 DNA detection on a gold nanoparticle-enhanced piezoelectric biosensor*. Chinese Science Bulletin, 2008. **53**(8): p. 1175-1184.
10. Ohara, T.J.T., M.; Kermani, M.Z., *Sample detection to initiate timing of an electrochemical assay*, U.S. Patent, Editor 2001, Lifescan, Inc.: United States of America. p. 7.
11. Myers, F.B.L., L.P., *Innovations in optical microfluidic technologies for point-of-care diagnostics*. Lab on a Chip, 2008. **8**(12): p. 2015-2031.
12. Carlberg, D., *Lateral-Flow Assays*, in *Drugs of Abuse*, R.C.T. Wong, H.Y., Editor 2005, Humana Press. p. 99-114.
13. Chunyan, L.P.-M., W.; Browne, A.; Soohyun, L.; Ahn, C.H. *Hot-Embossed Piezoelectric Polymer Micro-Diaphragm Arrays Integrated with Lab-on-a-Chip for Protein Analysis*. in *Sensors, 2007 IEEE*. 2007.
14. Li C.; Wu, P.-C.S., L.A.; Narayan, R.K., *Dual-mode operation of flexible piezoelectric polymer diaphragm for intracranial pressure measurement*. Vol. 96. 2010: AIP. 053502.
15. Li, C.e.a., *A novel lab-on-a-tube for multimodality neuromonitoring of patients with traumatic brain injury (TBI)*. Lab on a Chip, 2009. **9**(14): p. 1988-1990.
16. Eiras, J.A., *Materiais piezoelétricos - Capítulo 2*. Grupo de cerâmicas ferroelétricas. 2007, Universidade Federal de São Carlos.
17. Patashnick, H.M., M.; Rogers, B., *Tapered element oscillating microbalance technology* Ninth U.S. Mine Ventilation Symposium, 2002: p. 625-631.
18. *Cahn C-34 Microbalance, Cahn C-35 Ultra-Microbalance, Instruction Manual* 2003: Thermo Eletron Corporation.

19. Santos, C.A.e.a., *Correlation of two bioadhesion assays: the everted sac technique and the CAHN microbalance*. Journal of Controlled Release, 1999. **61**(1-2): p. 113-122.
20. Inacio, P.M.-M., J. N.; Dias, C. J. *Development of a biosensor based on a piezoelectric film*. in *Eletrets, 2002. ISE 11. Proceedings. 11th International Symposium on*. 2002.
21. Dragan, D., *Materials for high temperature piezoelectric transducers*. Current Opinion in Solid State and Materials Science, 1998. **3**(5): p. 469-473.
22. Bunde, R.L.J., E.J.; Rosentreter, J.J., *Piezoelectric quartz crystal biosensors*. Talanta, 1998. **46**(6): p. 1223-1236.
23. Hosoki, S.H., S.; Takata, K., *Scanning surface microscope using a microbalance device for holding a probe-tip*, U.S. Patent, Editor 1989, Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan: USA. p. 7.
24. Soutar, A.W., M.; Cherrie, J.W.; Seaton, A., *Comparison between a personal PM10 sampling head and the tapered element oscillating microbalance (TEOM) system*. Atmospheric Environment, 1999. **33**(27): p. 4373-4377.
25. Van Donk, S.e.a., *Combined Diffusion, Adsorption, and Reation Studies of n-Hexane Hydroisomerization over Pt/H-Mordenite in an Oscillating Microbalance*. Journal of Catalysis, 2001. **204**(2): p. 272-280.
26. Zhu, W.K., F.; Van der Linden, B.; Moulijn, J.A., *Equilibrium adsorption of linear and branched C6 alkanes on silicalite-1 studied by the tapered element oscillating microbalance*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2001. **3**(9): p. 1755-1761.
27. Liu, K.F., S.C.; Ho, T.C.; Rumschitzki, D.S., *Identification of Coke Precursors in Heptane Reforming with a Multioutlet Fixed-Bed Reactor and a Novel Vibrational Microbalance*. Journal of Catalysis, 1997. **169**(2): p. 455-468.
28. Hillman, A.R.L., D.C.; Bruckenstein, S., *Eletrochemical quartz microbalance monitoring of poly(vinylferrocene) eletrodeposition*. Langmuir, 1991. **7**(1): p. 191-194.
29. Chester, M.Y., L.C.; Stephens, J.B., *Quartz Microbalance Studies of an Adsorbed Helium Film*. Physical Review Letters, 1972. **29**(4): p. 211.
30. Rabe, J.B., S.; Schröder, J.; Hauptmann, P., *Monolithic Miniaturized Quartz Microbalance Array and Its Application to Chemical Sensor Systems for Liquids*. IEEE SENSORS JOURNAL, 2003. **3**(4): p. 8.
31. Kanazawa, K.K.G., J.G., *Frequency of a quartz microbalance in contat with liquid*. Analytical Chemistry, 1985. **57**(8): p. 1770-1771.
32. Brunink, J.N., C.; Bungaro, F.; Davide, F.; Amico, C.; Paolesse, R.; Boschi, T.; Faccio, M.; Ferri, G., *The application of metalloporphyrins as coating material for quartz microbalance-based chemical sensors*. Analytica Chimica Acta, 1996. **325**: p. 12.
33. Kanazawa, K.K., *Mechanical behaviour of films on the quartz microbalance*. Faraday Discussions, 1997. **107**: p. 77-90.
34. Sokoloff, J.B.K., J.; Widom, A., *Determination of an atomic-scale frictional force law through quartz-crystal microbalance measurements*. Physical Review B, 1993. **48**(12): p. 9134.
35. Towery, R.B.F., N.C.; Zhang, P.; Evans, J.A., *Genomic DNA hybridizes with the same rate constant on the QCM biosensor as in homogeneous solution*. Biosensors and Bioeletronics, 2001. **16**(1-2): p. 1-8.

36. Wang, J.J., M.; Nilsen, T.W.; Getts, R.C., *Dendritic Nucleic Acid Probes for DNA Biosensors*. Journal of the American Chemical Society, 1998. **120**(32): p. 8281-8282.
37. Yao, C.e.a., *Hybridization assay of hepatitis B virus by QCM peptide nucleic acid biosensor*. Biosensors and Bioelectronics, 2008. **23**(6): p. 879-885.
38. Hong, S.-R.C., S.-J.; Jeong, H.D. Hong, S., *Development of QCM biosensor to detect a marine derived pathogenic bacteria Edwardsiella tarda using a novel immobilisation method*. Biosensors and Bioelectronics, 2009. **24**(6): p. 1635-1640.
39. Hao, R.e.a., *Rapid detection of Bacillus anthracis using monoclonal antibody functionalized QCM sensor*. Biosensors and Bioelectronics, 2009. **24**(5): p. 1330-1335.
40. Marat-Mendes, R., *Desenvolvimento de um transdutor piezoelétrico para medição da aceleração angular*. Universidade Nova de Lisboa, 2000.
41. Tzou, H.S.T., C.I., *Distributed piezoelectric sensor/actuator design for dynamic measurement/control of distributed parameter systems: A piezoelectric finite element approach*. Journal of Sound and Vibration, 1990. **138**(1): p. 17-34.
42. Bauer, S.e.a., *Piezoelectric polymers*. MRS Proceedings, 2005.
43. Zylberberg, J.B., A.A.; Takayama-Muromachi, E.; Ye, Z.-G., *Bismuth Aluminate: A New High-TC Lead-Free Piezo-/ferroelectric*. Chemistry of Materials, 2007. **19**(26): p. 6385-6390.
44. Castro, H.F., *Sensores e atuadores baseados em polímeros piezoelétricos*, in *Departamento de Física* 2007, Universidade do Minho.
45. Ghandi, M.V.T., B.S., *Smart Materials and Structures* 1994: Chapman and Hall.
46. Xin, Y.e.a., *Piezoelectric diaphragm as a high performance biosensor platform*. Appl. Phys. Lett., 2006. **89**(22): p. 223508.
47. Takahashi, Y.T., H., *Crystal Structure of Form III of Poly(vinylidene fluoride)*. Macromolecules, 1980. **13**(5): p. 1317-1318.
48. Fernandes, I.M.P., *Estudo do efeito da temperatura e a taxa de deformação nas propriedades mecânicas do poli(fluoreto de vinilideno - trifluor etileno), P(VDF-TrFE)*, in *Departamento de Física* 2006, Universidade do Minho.
49. Sencadas, V., *Influência das condições de processamento na morfologia e fases cristalinas do PVDF e nas transições de fase do copolímero P(VDF-TrFE)*, in *Departamento de Física* 2005, Universidade do Minho.
50. De Giglio, E.C., S.; Cioffi, N.; Torsi, L.; Sabbatini, L., *Analytical investigations of poly(acrylic acid) coatings electrodeposited on titanium-based implants: a versatile approach to biocompatibility enhancement*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2007. **389**(7): p. 2055-2063.
51. Abou Neel, E.K., J., *Physical and biocompatibility studies of novel titanium dioxide doped phosphate-based glasses for bone tissue engineering applications*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2008. **19**(1): p. 377-386.
52. Ohring, M., *The Materials Science of thin Films*. New York Academic Press, 1991. **second edition**.
53. Ferreira, A.J.B., *Estudo da influência da micro/nanoestrutura superficial na adesão de filmes finos de TiNx em materiais de Tereftalato de Polietileno (PET)*, in *Departamento de Física* 2009, Universidade do Minho.
54. Kelly, P.J.A., R. D., *Magnetron sputtering: a review of recent developments and applications*. Vacuum, 2000. **56**(3): p. 159-172.
55. Norrman, K.G.-S., A.; Larsen, N.B., *Studies of spin-coated polymer films*. Annual Reports Section "C" (Physical Chemistry), 2005. **101**: p. 174-201.

56. Sahu, N.P., B.; Panigrahi, S., *Fundamental understanding and modeling of spin coating process: A review*. Indian Journal of Physics, 2009. **83**(4): p. 493-502.
57. Lovinger, A.J., *Ferroelectric Polymers*. Science, 1983. **220**: p. 1115-1121.
58. Sessler, G.M., *Poling and Properties of Polarization of Ferroelectric Polymers and Composites*. Key Engineering Materials, 1994. **92-93**: p. 249-274.
59. Gomes, J.M.C., *Construção, desenvolvimento e otimização de sistema de polarização por Corona para materiais ferroelétricos*, in *Engenharia* 2009, Universidade do Minho. p. 82.
60. Giacometti, J.A.O., O.N., *Corona charging of polymers*. Electrical Insulation, IEEE Transactions on, 1992. **27**(5): p. 924-943.
61. Giacometti, J.A.F., S.; Costa, M.M., *Corona Charging of Polymers: Recent Advances on Constant Current Charging*. Brazilian Journal of Physics, 1999. **29**(2): p. 269.
62. Chen, J., *Direct Current Corona-Enhanced Chemical Reactions*, 2002, University of Minnesota.
63. Das Gupta, D.K.D., K., *Corona charging and the piezoelectric effect in polyvinylidene fluoride*. Journal of Applied Physics 1978. **49**(8): p. 3.
64. Inc., K.I., *Low level measurements handbook*, K.I. Inc., Editor 2004. p. 50-51.
65. Goldstein, J., *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis*. Vol. 1. 2003: Springer.
66. Veeco, *Dektak 150 Surface Profiler*.
67. Mahon, S., *Veeco's Dektak 150 surface profiler offers 10nm thin film resolution*, in *PV-Tech* 2007.
68. Pozar, D.M., *Microwave Engineering*. 2nd edition ed1998, United States of America: John Wiley & Sons, Inc.
69. Kollwin. [cited 2011 12 de Junho]; Available from: <http://www.kollwin.com/blog/eletromagnetic-spectrum/>.
70. *Measurement Specialties*. Piezo film sensors - Technical Manual 2006.
71. RS, *SMA END LAUNCH JK 1.07PCB*.
72. Ferreira, A.P., P.; Lancero-Mendez, S.; Machado, A.V.; Vaz, F., *Ativation of polyethylene terephthalate using different plasma treatments*. Vol. 12. 2010, Bucuresti: INOE 2000. 9.
73. Cardoso, V.F.C., C.M.; Minas, G.; Lancero-Mendez, S., *Otimization of PVDF-TrFE for sensor and atuator applications*. (submitted), 2011.
74. Ribeiro, C.e.a., *Evaluation of the poling state of PVDF for cell culture applications*. Submitted, 2011.